

Aus dem Institut für Bakteriologie und Immunologie
der Justus Liebig-Universität zu Gießen
Direktor: Professor Dr. H. Blobel

Die Phagentypisierung von Staphylokokken vom Rind

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
bei der Veterinär-Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

Eingereicht von
Werner Bonin
Tierarzt aus Bad König/Odenwald

Gießen 1966

LANE MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTOR
PALO ALTO, CALIFORNIA



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153519_0035

Aus dem Institut für Bakteriologie und Immunologie
der Justus Liebig-Universität zu Gießen
Direktor: Professor Dr. H. Blobel

Die Phagentypisierung von Staphylokokken vom Rind

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
bei der Veterinär-Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

Eingereicht von
Werner Bonin
Tierarzt aus Bad König/Odenwald

Gießen 1966

Mit Genehmigung der Veterinär-Medizinischen Fakultät in Gießen

Dekan: Professor Dr. H. Bartels

Berichterstatter: Professor Dr. H. Blobel

Tag der mündlichen Prüfung: 8. Dezember 1966

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1,0 Einleitung	1
2,0 Literaturübersicht	3
2,1 Entwicklung der Lysotypie von Staphylococcus aureus	3
2,2 Lysotypie von Staphylokokken menschlicher Infektionen	5
2,3 Lysotypie von Staphylokokken vom Rind	6
2,31 Typisierung mit dem Internationalen Phagensatz	6
2,32 Typisierung mit "bovinen" Staphylokokkenphagen	11
3,0 Material und Methoden	18
3,1 Material	18
3,11 Staphylokokken	18
3,12 Phagen	19
3,13 Nährmedien	20
3,2 Methoden	20
3,21 Titration der Phagen	20
3,22 Anreicherung der Phagen	21
3,23 Lysespektrum der Phagen	22
3,24 Typisierung der Staphylokokkenkulturen	23
4,0 Ergebnisse	25
4,1 Charakterisierung der Phagen	25
4,2 Lysotypieergebnisse	25
4,21 Typisierbarkeit der Staphylokokkenkulturen	25
4,22 Reaktionshäufigkeit der einzelnen Phagen	29

	Seite
4,23 Lysebilder	33
4,231 Anzahl der Lysebilder	33
4,232 Häufigkeit bestimmter Lysebilder	33
4,233 Länge der Lysebilder	
4,24 Lysogruppen	38
4,25 Häufigkeit von Phagenkombinationen in Lysebildern	40
4,26 Reproduzierbarkeit von Phagenreaktionen	46
5,0 Diskussion	48
6,0 Zusammenfassung	55
7,0 Literaturverzeichnis	57
Anhang (Abbildungen 1, 2 und 3)	62
Lebenslauf	

1,0 Einleitung

Durch Staphylococcus aureus bei Mensch und Tier hervorgerufene Infektionen können trotz Antibiotika und moderner Chemotherapeutika oft nicht kontrolliert werden. Die Staphylokokken sind ubiquitär verbreitet, und es kommt leicht zu Infektionen größeren Ausmaßes, die z.B. als Staphylokokkenhospitalismus bekannt sind.

Für die Veterinärmedizin sind die Staphylokokken als Erreger von Mastitiden bei Rindern von besonderer Bedeutung. Auf die zunehmende Häufigkeit der Staphylokokkenmastitis wies LERCHE²³ hin: demnach wurden im Jahre 1939 von etwa 5 % der untersuchten Mastitisfälle Staphylokokken isoliert, während sich in der letzten Zeit eine erhebliche Zunahme der Staphylokokkenbefunde auf 15 % (KIELWEIN²²) und sogar 50 % (BRODAUF⁴) zeigte.

Von S. aureus hervorgerufene Euterentzündungen sind häufig subklinisch und verlaufen vielfach chronisch. Für die Ausbreitung der Staphylokokken sind daher die subklinisch infizierten Kühe als Dauerausscheider von größerer Bedeutung als offensichtlich klinisch kranke Tiere. Die Staphylokokkenmastitis ist ein Herdenproblem, deren Bekämpfung eine möglichst genaue Diagnose erfordert (SEELEMANN⁴²).

Zur Aufklärung der Epidemiologie von Staphylokokkeninfektionen genügt es nicht, die Art "Staphylococcus aureus" mit den herkömmlichen kulturellen, mikroskopischen und biochemischen Untersuchungsmethoden zu ermitteln, sondern eine Unterteilung in Biotypen ist oft unerlässlich (PÖHN³⁷). Es hat sich gezeigt, daß Staphylokokken als Art keine feste, umrissene Einheit darstellen, sondern in einzelnen Eigenschaften deutliche Unterschiede aufweisen, die eine Abgrenzung in selbständige Typen erlauben (BRANDIS³). Als besonders nutzbringend für die Sta-

phylokokken-Differenzierung hat sich die Lysotypie erwiesen. Die Lysotypie beruht auf der Bestimmung der unterschiedlichen Empfindlichkeit von Staphylokokken gegenüber Testbakteriophagen. Sie ist in der bakteriologischen Diagnostik menschlicher Infektionen seit vielen Jahren angewendet worden, um die Infektionsquelle und die Ausbreitung der Infektion, die Infektionskette, zu ermitteln.

Die Lysotypie ist aber auch zur Differenzierung von S. aureus tierischen Ursprungs in letzter Zeit, vor allem in England und den USA, zur Klärung epidemiologischer Probleme herangezogen worden. Dazu wurden entweder die Testphagen der Internationalen Serie (BLAIR und WILLIAMS¹) oder von lysogenen Stämmen tierischer Staphylokokken isolierte Phagen (SETO und WILSON⁴⁴, NAKAGAWA²⁹, DAVIDSON⁸) verwendet. Allerdings sind wegen der Vielzahl der verwendeten Testphagen nicht immer vergleichbare Ergebnisse erzielt worden. Deshalb regte DAVIDSON⁹ kürzlich die Entwicklung eines international vereinbarten Phagensatzes zur Typisierung "boviner" Staphylokokken an, wie dies für die von menschlichen Infektionen isolierten Staphylokokken durch das "Internationale Subkomitee für Staphylokokkentypisierung" bereits geschehen ist.

Das Ziel dieser Untersuchungen war es, einen Beitrag für die Auswahl und Charakterisierung eines geeigneten Phagensatzes zur Typisierung in Deutschland vorkommender "boviner" Staphylokokken zu liefern.

2,0 Literaturübersicht

2,1 Die Entwicklung der Lysotypie von Staphylococcus aureus

Einen zusammenfassenden Überblick über die Entwicklung der Lysotypie hat BRANDIS² veröffentlicht.

Mit Hilfe des sogenannten Kreuzkulturtestes isolierte FISK¹¹ von lysogenen koagulasepositiven Staphylokokkenkulturen 27 verschiedene Phagen. Er wies darauf hin, daß der hohe Grad der Wirtsspezifität der Phagen eine Unterteilung von pathogenen Staphylokokken ermöglicht. Weder durch Lagerung noch durch mehrfache Mäusepassagen wurde die Phagenempfindlichkeit der Staphylokokkenstämme verändert; ebenso zeigten Staphylokokken gleichen Ursprungs bei wiederholter Typisierung das gleiche Lysebild. WILSON und ATKINSON⁵¹ vervollständigten die Methode von FISK. Sie isolierten 7 verschiedene Phagenstämme und reicher-ten sie in Bouillonkulturen mit den jeweiligen empfindlichen Staphylokokkenstämmen an. Durch mehrfaches Überimpfen, von einzelnen Phagenlöchern ausgehend, wurden reine Phagenstämme gewonnen. WILSON und ATKINSON empfahlen, die Phagen in der "kritischen Testkonzentration" zu verwenden, d.h. in der Verdünnungsstufe, welche beim Aus-titrieren mit dem Anreicherungsstamm konfluierende Lyse ergab. Die heute gebräuchliche Typisierungstechnik wurde hauptsächlich von WILLIAMS und RIPPON⁵⁰ entwickelt. Sie verwendeten einen Satz von 24 Phagen und beschrieben die Anreicherung der Phagen und die Routinetypisierung von Staphylokokkenkulturen. Aufgrund der Beobachtung, daß bestimmte Phagen dazu neigen, gemeinsam in Lysebildern zu erscheinen, stellten sie 3 Phagengruppen auf. Von besonderer Bedeutung für die Vergleichbarkeit und Konstanz von Typisierungsergebnissen war das lytische Spektrum neu angereicherter Phagenpräparationen. Das ly-

tische Spektrum zeigte das charakteristische Verhalten der Phagen auf Staphylokokken-Teststämmen an.

Die Anwendung der Staphylokokkenlysotypie in verschiedenen Ländern erforderte im Laufe der Jahre eine Standardisierung der gebräuchlichen Methoden, um zuverlässige und vergleichbare Ergebnisse zu erhalten. So empfahlen BLAIR und WILLIAMS¹ im Auftrag des "Subcommittee on Phage Typing of Staphylococcus of the Nomenclature Committee of the International Association of Microbiological Societies" einheitliche Lysotypiemethoden, nach denen heute allgemein verfahren wird. Es wird ein Basissatz von 21 verschiedenen Staphylokokken-Phagen, die aus einer Vielzahl bekannt gewordener Phagen nach ihrer Reaktionsbreite und -stabilität ausgewählt wurden, verwendet. Diese 21 Phagen wurden aufgrund gemeinsamer Lyseeigenschaften, wie folgt, in 4 Haupt- und einer Zusatzgruppe zusammengefaßt.

Tabelle I ⁽¹⁾

Phagen der Internationalen Serie (Basissatz)

Lysogruppe	Phagen
I	29, 52, 52A, 79, 80
II	3A, 3B, 3C, 55, 71
III	6, 7, 42E, 47, 53, 54, 75, 77
IV	42D
Zusatz- gruppe M ⁽²⁾	81, 187

(1) Stand 1961

(2) M = "Miscellaneous" (noch nicht endgültig eingruppierte Phagen)

2,2 Lysotypie von Staphylokokken menschlicher Infektionen

Auf die zunehmende Bedeutung von Staphylokokken als Infektionserreger, besonders in Kliniken und Krankenhäusern, ist vielfach hingewiesen worden (GRÜN^{18,19}, MATZ und SCHULZE²⁷, MATZ²⁸, PÖHN³⁷, PULVERER^{39,40}, ÖDING und SOMPOLINSKY³¹). Beim Ausbruch solcher Infektionen ist es zur Klärung der Epidemiologie von großem Nutzen, die Erreger in Untereinheiten, sogenannte Typen, aufzugliedern, die sich voneinander abgrenzen und getrennt verfolgen lassen. Voraussetzung ist, daß die Typen eine hohe Konstanz aufweisen und im Infektionsgeschehen kein Typenwechsel auftritt (BRANDIS³). Infolge möglicher Variabilität der phagenempfindlichen Rezeptoren (PÖHN³⁷) ist eine Differenzierung der Kulturen nur möglich, wenn alle Testphagen im Lysebild angegeben werden, die mit dem Staphylokokkenstamm eine deutliche Lyse ergeben. Trotzdem ist es durchaus möglich, daß geringe Differenzen im Lysebild eines Stammes bei wiederholter Prüfung auftreten. Dies kann die Beurteilung erschweren, ob lysotypieähnliche Staphylokokkenstämme tatsächlich identisch sind (GRÜN¹⁸).

PULVERER⁴⁰ zeigte an zwei Beispielen die Eignung der Typendifferenzierung von Staphylokokken für epidemiologische und diagnostische Zwecke. Mit Hilfe der Lysotypie gelang es ORTEL³², die Ursache einer durch Genuß von Fischkonserven ausgelösten Staphylokokken-Lebensmittelvergiftung festzustellen. In einer Zusammenstellung der Staphylokokken-Lysotypieergebnisse mehrerer Autoren in Deutschland berichtete PULVERER³⁹, daß durchschnittlich 84 % der Stämme typisierbar waren. In der Lysogruppenzugehörigkeit überwog mit 53 % die Gruppe I. Es folgten die Gruppen III mit 17,8 % und II mit 7 %. Stämme der Lysogruppe IV waren mit 0,4 % selten.

2,3 Lysotypie von Staphylokokken vom Rind

2,31 Typisierung mit dem Internationalen Phagensatz

Nachdem die Brauchbarkeit von Phagen zur Differenzierung von Staphylokokken menschlicher Infektionen erwiesen war, lag es nahe, deren Reaktionen mit tierischen Staphylokokken zu prüfen. Dazu untersuchte SMITH⁴⁷ 200 Staphylokokkenkulturen aus Milchproben. Von diesen waren 95,5 % mit unverdünnten Phagenpräparationen typisierbar. Mehr als die Hälfte dieser Stämme reagierte mit Phagen der Lysogruppe IV. Das Lysebild ergab keinen Unterschied zwischen Staphylokokkenstämmen von chronischen und akuten Mastitiden. Koagulasenegative Staphylokokken reagierten nicht mit den Phagen.

Eingehende epidemiologische Untersuchungen über bovine Mastitiden stellten PRICE, NAEVE, RIPPON und WILLIAMS³⁸ mit den Phagen der Internationalen Serie an. Sie zeigten, daß in einer stark infizierten Herde mehrere Phagentypen vorkamen. Verschiedene Phagentypen in einer Milchprobe eines Euterviertels wurden jedoch nur in 13 von 104 untersuchten Vierteln gefunden. In diesen Fällen lagen aber gleichzeitig Verletzungen der Zitzenöffnung vor. Die Konstanz der Phagentypen ergab sich daraus, daß bei 2- bis 3maliger Typisierung von Kulturen, die in monatlichem Abstand aus denselben 35 Eutervierteln isoliert wurden, ein unverändertes Lysebild beobachtet wurde. Die meisten "bovinen" Staphylokokken gehörten der Lysogruppe IV an, aber auch Lyse durch einen oder mehrere Phagen der Lysogruppe I trat fast ebensohäufig auf. In vielen Fällen zeigten die Kulturen eine ziemlich komplexe Phagenempfindlichkeit, die die Entscheidung über die Identität zweier Stämme nicht immer ermöglichte. COLES und EISENSTARK⁶ berichteten über die Brauchbarkeit "humaner" Staphylokokken-Phagen zur Typisierung von Staphylokokken tierischen Ursprungs. Von 173 Staphylokokkenkulturen waren 87 (50,3 %) typisierbar, wobei 26,6 % vom Phagen 42D und 16,2 % von den Phagen 42D und 81 lysiert wurden.

Mit Ausnahme der 42D-Typen konnten die Stämme nicht in die Lysogruppen eingeordnet werden. Staphylokokkenkulturen von Hunden und Katzen waren alle resistent gegenüber den "humanen" Testphagen, während eine Kultur vom Pferd gegenüber 11 Phagen empfindlich war. In Deutschland wurden von PAPA VASSILIOU und OBIGER³³ Staphylokokkenkulturen aus Einzel- und Kannenmilchproben mit dem Internationalen Phagensatz in der 100fachen RTD geprüft. Von 110 Kulturen waren damit 84 (76,4 %) typisierbar. Die in Schleswig-Holstein gefundenen Staphylokokken gehörten zu den Lysogruppen III (57 Stämme) und III/IV (24 Stämme). Nur 2 Stämme waren in die Lysogruppe IV und 1 Stamm in die Gruppe I/III einzuordnen. DAVIDSON⁸ wählte nach der Prüfung von 60 Staphylokokkenkulturen vom Rind mit dem Internationalen Basissatz vom Jahre 1954 und einigen Zusatzphagen einen Satz von Phagen aus, der ihm für die Typisierung "boviner" Staphylokokken geeignet erschien. Mit diesen Phagen typisierte er 222 Staphylokokkenkulturen. Er beobachtete 106 Lysebilder, die sich durch mindestens 2 Phagenreaktionen unterschieden und eine Einteilung der Stämme in 6 Gruppen ermöglichten. Dabei gehörte der größte Teil der Stämme den Gruppen I/III (47,7 %) und IV (38,3 %) an. Nur ein Stamm reagierte mit den Phagen der Gruppe I allein. Erschwerend für die Interpretation der Typisierungsergebnisse wirkte sich aus, daß die Staphylokokken mit mehreren Phagen gleichzeitig reagierten, nämlich

86 Stämme mit	1 - 5 Phagen,
91 Stämme mit	6 -10 Phagen,
45 Stämme mit	11 -18 Phagen.

Hinzu kam, daß sich viele Lysebilder der Lysogruppen I und III überschneiden und der Internationale Satz nur 2 Phagen der Gruppe IV enthielt. NAKAGAWA²⁹ untersuchte in

Japan die Brauchbarkeit der Phagen der Internationalen Serie zur Typisierung von Staphylokokken aus Milchproben. Obwohl er die Phagenpräparationen in der 10fachen RTD anwendete, waren von 375 "bovinen" Staphylokokkenkulturen nur 171 (45,6 %) typisierbar. Die meisten Stämme (36,3 %) gehörten zur Lysogruppe III, aber fast ebenso viele zur Gruppe IV (33,3 %). Da die Lysogruppe IV jedoch nur aus dem Phagen 42D bestand, bezweifelte NAKAGAWA, ob diese Stämme tatsächlich identisch waren. Die Phagen der Internationalen Serie hielt er aus folgenden Gründen für ungeeignet zur Typisierung von Staphylokokken vom Rind:

- a) Mehr als die Hälfte der Kulturen war untypisierbar.
- b) Die Ergebnisse waren oft nicht reproduzierbar.
- c) Stämme der Lysogruppe IV waren nicht weiter zu differenzieren.
- d) Die Stämme ließen sich nur teilweise in die Lysogruppen einordnen.

Nach COLES und EISENSTARK⁷ war es, bedingt durch das ubiquitäre Vorkommen von Staphylokokken, schwierig, zugleich mit der Isolierung dieser Bakterien ihre ursächliche Bedeutung bei einem Krankheitsfall zu beweisen. Epidemiologische Untersuchungen scheiterten am Mangel einer brauchbaren Nachweismethode zur Identität einzelner Typen. In besonderem Maße wurde deshalb in den letzten Jahren von vielen Autoren die Typendifferenzierung mit Bakteriophagen für epidemiologische Studien der Staphylokokkenmastitis angewendet.

Bei Untersuchungen, ob Staphylokokken tierischen Ursprungs gleiche Lysebilder wie Staphylokokken menschlicher Infektionen haben, typisierte MANN²⁵ 144 "bovine" Staphylokokkenkulturen. Bei einem Teil der Stämme fand er Lysebilder, die denen von "humanen" Stämmen sehr ähnlich waren. Zum Beispiel gehörten 3 Stämme dem Phagentyp 80/81 an, der besonders oft als Erreger des gefürchteten Staphylo-

kokkenhospitalismus gefunden wurde (GRÜN und PULVERER²⁰). GEORGE, RUSSEL und WILSON¹⁶ fanden bei der Typisierung von 746 koagulasepositiven Staphylokokken bovinen Ursprungs viele Phagentypen, die auch bei Staphylokokken menschlicher Infektionen vorkommen; darunter auch die Typen 80/81. SOLOMON, SAN CLEMENTE und DRURY⁴⁸ beobachteten bei der Typisierung von 146 Staphylokokkenkulturen aus 23 Rinderbeständen 42 Lysebilder, ohne dabei einen weitverbreiteten Phagentyp zu finden. Keines der Lysebilder glich denen von Staphylokokken menschlicher Infektionen. JONES und BENNET²¹ untersuchten 412 "bovine" Staphylokokkenkulturen aus 40 Rinderbeständen und deren Beziehungen zu Staphylokokken, die aus den Nasen dort arbeitender Melker isoliert wurden. Dabei stellten sie fest, daß in 12 Beständen 7 von 13 Melkern Staphylokokken des gleichen Phagentyps beherbergten, wie sie auch in den Milchproben der Kühe der betreffenden Bestände vorkamen. SLANETZ und BARTLEY⁴⁶ berichteten über die Phagentypisierung und serologische Typisierung von 1417 koagulasepositiven Kulturen von Staphylokokkenmastitiden. Mit 26 % gehörte der größte Teil der Stämme zur Lysogruppe I. Sechs Stämme vom Phagentyp 80/81 wurden gefunden, die jedoch in den untersuchten Beständen keine Infektionen größeren Ausmaßes verursachten. Zur Typendifferenzierung von Mastitisstaphylokokken hielten sie die Phagentypisierung für wirkungsvoller als die serologische Charakterisierung. Zwischen der serologischen Gruppenzugehörigkeit und der Lysogruppenzugehörigkeit wurden keine wesentlichen Gemeinsamkeiten festgestellt. FLEMING und PATON¹² zeigten bei Untersuchungen über Beziehungen zwischen der Lysogruppenzugehörigkeit und der Hämolysinproduktion von Staphylokokken akuter und chronischer Mastitiden, daß Gruppe III- und "Mischgruppenstämmen" (multigroup-strains)⁺ die besten α -Toxinbildner

⁺Stämme, die von Phagen mehrerer Gruppen lysiert wurden.

waren. Das meiste β -Toxin wurde von Stämmen der "Miscellaneous"-Gruppe gebildet, während Gruppe IV-Stämme und ein Teil der "Miscellaneous"-Stämme beide Toxine produzierten. Zur Charakterisierung "boviner" Staphylokokken untersuchten LOKEN und HOYT²⁴ 691 Kulturen aus 43 Rinderbeständen, in denen häufig Staphylokokkenmastitiden auftraten, mit den Phagen der Internationalen Serie. Typisierbare Stämme fanden sie in 33 Beständen, von denen 26 nur mit einem typisierbaren Stamm infiziert waren. Jedoch beherbergten diese 26 Bestände außerdem noch nicht-typisierbare koagulasepositive Staphylokokken. Wenn auch die Interpretation der Lysotopieergebnisse durch fehlende Spezifität der Phagenreaktionen erschwert wurde, so war die Bestimmung der Identität verschiedener Stämme doch möglich. Keine Unterschiede im Lysebild fanden sie zwischen Stämmen von akuten, chronischen oder subklinischen Mastitiden. Nach der routinemäßigen Reinigung wurden von den Melkmaschinen Staphylokokken mit demselben Lysebild isoliert wie von den Kühen der betreffenden Bestände. Zwischen der Hämolysinproduktion und dem Lysebild der Staphylokokken stellten LOKEN und HOYT keine Beziehungen fest.

Wie schon frühere Autoren (COLES und EISENSTARK⁶, PRICE, NAEVE, RIPPON und WILLIAMS³⁸, SMITH⁴⁷) berichteten auch MANN²⁵, FLEMING und PATON¹² und LOKEN und HOYT²⁴, daß von allen Phagen der Internationalen Serie der Phage 42D (Lysogruppe IV) die meisten "bovinen" Staphylokokken lysierte. Andere Autoren dagegen (JONES und BENNET²¹, EDDS und SANDERS¹⁰, FUJIKURA und SHIBATA¹³, GALTON et al.¹⁴, SIGIMURA⁴⁵) fanden häufiger Lyse durch einen Phagen der Gruppe III. SLANETZ und BARTLEY⁴⁶ beobachteten, daß die meisten Stämme von Phagen der Gruppe I lysiert wurden.

Eine Übersicht über die Typisierbarkeit und Lysogruppenzugehörigkeit bei "bovinen" Staphylokokken mit Phagen der Internationalen Serie gibt die Tabelle II. Die Ergebnisse der obengenannten Autoren sind in der Tabelle ebenfalls aufgeführt.

2,32 Typisierung mit "bovinen" Staphylokokken-Phagen

Die Typisierung mit den Phagen der Internationalen Serie, wie sie zur Differenzierung von Staphylokokken menschlicher Infektionen mit Erfolg verwendet werden, hat ergeben, daß die Phagen dieses Satzes zur Typisierung von Staphylokokken vom Rind nur teilweise geeignet sind. Der geringe Prozentsatz typisierbarer Stämme, zu lange Lysebilder und ungenügende Unterteilung von Gruppe IV-Stämmen brachten für epidemiologische Zwecke nur unbefriedigende Ergebnisse.

SMITH⁴⁷ zeigte aber, daß eine weitere Differenzierung von Stämmen der Lysogruppe IV mit Phagen, die von "bovinen" lysogenen Staphylokokken isoliert wurden, möglich ist. Mit 7 Phagen von "bovinen" Kulturen gelang es ihm, 16 Staphylokokkenkulturen aus Milchproben, die alle von dem Phagen 42D lysiert wurden, in 9 verschiedene Stämme zu unterteilen. SETO, KAESBERG und WILSON⁴³ isolierten 6 "bovine" Phagen (S_1 , S_2 , S_3 , S_4 , S_5 , S_6). Den Phagen S_3 isolierten sie von einer lysogenen Staphylokokkenkultur aus einer Milchprobe. Die Phagen S_1 und S_2 haben diese Autoren durch wiederholte Anreicherung des Phagen 42D an teilweise phagenresistente "bovine" Staphylokokkenstämme angepaßt. Auf die gleiche Weise leiteten sie die Phagen S_4 , S_5 und S_6 von dem Phagen S_3 ab. Da nur ein geringer Teil von Staphylokokkenkulturen aus Milchproben mit den Phagen der Internationalen Serie

Tabelle II

Lysotypieergebnisse von Staphylokokken vom Rind mit den Phagen der Internationalen Serie

			% in RTD (außer x)							
Autoren	Land	Zahl der Kulturen	Gr. I	Gr. II	Gr. III	Gr. IV	M	Gem.Gr.	NT	
COLES, EISEN-STARK ⁶ 1959	USA	173				26,6		23,7	49,7	
NAKAGAWA ²⁹ 1960	Japan	375	4,3	3,7	16,5	15,2		5,9	54,4	x) 10 fache RT
PAPAVASSILIOU, OBIGER ³³ 1960	Deutsch-land	110			52	1		23	24	x) 100fache RT
MANN ²⁵ 1960	USA	144	7,6		4,9	14,6	2,1	25,7	45,1	
FLEMING, PATON ¹² 1961	USA	101	3	1	9	19	9	29	31	x) NT-Kulturen 1000facher RTD
GALTON et al. ¹⁴ 1961	USA	801							32	x) 10fache RTD meist Gr. III
FROST ⁽⁺⁾ 1962	Austral.	574	20	1,4	34	1,2	2,8	2,3	38,3	
ROSASCHINO, BERTONI ⁴¹ 1962	Italien	211							57,7	x) 10fache RTD
LOKEN, HOYT ²⁴ 1962	USA	691	4,1	0,1	24,3	20,8		28,8	22	
SLANETZ, BARTLEY ⁴⁶ 1962	USA	1417	26		11			28	35	
WILSON ⁽⁺⁾ 1962	USA	225	6,7	1,3	4,9	11,6	0,44	20	55,1	
GEORGE, RUSSEL, WILSON ¹⁶ 1962	USA	746							42	
COLES ⁽⁺⁾ 1963	USA	1009	0,79	0,89	3,2	44,0	3,6	8,9	38,8	
ARCHER ⁽⁺⁾ 1964	Irland	54	7,4		13,0			51,9	27,8	
MATEJOVSKA ⁽⁺⁾ 1965	CSSR	225	7,1	3,6	6,7	19,6	0,89	5,3	56,9	
FUJIKURA, SHIBATA ¹³ 1965	Japan	306							67,3	meist Gr.III- und Gr.I/III-Kulturen
DAVIDSON ⁹ 1965	England	454	4,4		4,4	11,2	0,66	43,8	35,5	
JONES, BENNET ²¹ 1965	USA	412							44	meist Gr.I-, III- und IV-Kulturen
MARKHAM, MARKHAM ⁽⁺⁾ 1966	Neu-seeland	151							45	Gr. I, III, IV und Gem.Gr.

RTD = Routine-Test-Dosis

M = "Miscellaneous"-Gruppe

NT = Nicht-typisierbare Kulturen

Gem.Gr. = "Gemischte Gruppe" (Kulturen, die mit Phagen mehrerer Gruppen reagierten)

(+) = nach DAVIDSON⁹

reagierte, verwendeten SETO und WILSON⁴⁴ diese "bovinen" Phagen (S_1 , S_2 , S_3 , S_4 , S_5 , S_6) und den Phagen 42D zur Typisierung. Von 379 koagulasepositiven Staphylokokkenkulturen waren 354 (93 %) typisierbar. Dagegen waren 50 koagulasenegative Kulturen gegenüber allen Phagen resistent. Die typisierbaren Kulturen ließen sich in 12 Typen einteilen. Dabei trat der Phagentyp S_2 am häufigsten auf. Die Isolierung von 3 Phagen aus S_2 -empfindlichen Kulturen ermöglichte eine weitere Unterteilung der S_2 -Typen in 3 verschiedene Stämme. Die Typisierung mit "bovinen" Phagen und die Ausnutzung der Lysogenität von Staphylokokken gleichen Phagentyps gestatteten zuverlässige epidemiologische Untersuchungen über die Verbreitung von Staphylokokken in verschiedenen Herden.

Zur Einführung der Phagentypisierung bei Staphylokokken tierischen Ursprungs untersuchten COLES und EISENSTARK⁵ die Lysogenität von 85 Staphylokokkenkulturen. Die Filtrate dieser Kulturen zeigten alle auf einem oder mehreren von 100 zufällig ausgewählten Staphylokokken-Indikatorstämmen tierischen Ursprungs, auf die sie in Verdünnungen aufgetropft wurden, Phagenreaktionen. Acht Phagen der Internationalen Serie, die durch wiederholte Anreicherung an 8 tierische Stämme angepaßt worden waren, erschienen COLES und EISENSTARK⁶ zur Typisierung "boviner" Staphylokokken geeignet. Gegenüber den Phagen der Internationalen Serie waren von 173 Kulturen 49 % lyseresistent, gegenüber den adaptierten Phagen dagegen nur 18,8 %. Eine Einteilung der Stämme in Lysogruppen war jedoch nicht möglich, da nur 50 der 173 Stämme bestimmten Gruppen zuzuordnen waren. Erst die Isolierung von 2 Phagen von lysogenen "bovinen" Staphylokokken ermöglichte COLES und EISENSTARK⁷ die Einteilung in 21 zur Differenzierung brauchbare Phagentypen. NAKAGAWA³⁰ isolierte 16 Phagen von Staphylokokken vom Rind, die er nach ihrem lytischen Verhal-

ten mit den Anreicherungsstämmen in 3 Gruppen einteilte (A_1 , A_2 , B). Mit diesen Phagen waren von 442 Staphylokokkenkulturen aus Milchproben 72,2 % typisierbar. Dabei gehörten Staphylokokkenstämmen der Lysogruppe III der Internationalen Serie der Gruppe A_1 der Nakagawa-Phagen an und Stämme der Gruppe IV der Nakagawa-Gruppe A_2 . Mit den Internationalen Phagen nicht-typisierbare Kulturen gehörten der Gruppe B an, was darauf hinwies, daß der Internationale Basissatz Phagen der Gruppe B nicht enthielt. Mit der Kreuzkulturmethode isolierte DAVIDSON⁸ eine Reihe von Phagen, mit denen er die Zahl der mit dem Internationalen Phagensatz nicht-typisierbaren Kulturen reduzierte und eine bessere Differenzierung zwischen Stämmen der Gruppe IV erzielte. Nach DAVIDSON sollte ein Phagensatz zur Typisierung von Staphylokokken vom Rind folgende Kriterien erfüllen:

- a) Mit dem Phagensatz muß sich ein hoher Prozentsatz von Staphylokokkenkulturen typisieren lassen.
- b) Jeder Phage sollte eine begrenzte Wirtsspezifität haben, damit Überschneidungen in der Lysogruppenzugehörigkeit vermieden werden.
- c) In jeder Gruppe sollten genügend Phagen sein, um Staphylokokken der gleichen Gruppe differenzieren zu können, jedoch nicht so viele, daß das Lysebild zu lang wird und unzuverlässige Ergebnisse bringt.
- d) Der Phagensatz sollte zum Internationalen Basissatz in Beziehung stehen, so daß Lysotypieergebnisse verglichen werden können.

Eine Zusammenstellung von einigen bisher angewendeten "bovinen" Phagen zeigt die Tabelle III.

Tabelle III

"Bovine" Staphylokokken-Phagen

Autoren	Phagen
SMITH ⁴⁷ , 1948	1363-14, 129-16, P42D-E193, X ₂ , 88A
SETO, KAESBERG und WILSON ⁴³ , 1956	S ₁ , S ₂ , S ₃ , S ₄ , S ₅ , S ₆
COLES und EISENSTARK ⁶ , 1959	A8, A10, A13
NAKAGAWA ³⁰ , 1959	H98, 260, 264, 316, 365, BVMI6, T90, 418, 257, 407, H30, H30a, Y97, 883, S32
DAVIDSON ⁸ , 1961	31B, 78, 101, 102, 107, 108, 110, 111, 115
COLES ⁽⁺⁾ , 1962	AC ₁ , AC ₂ , AC ₃

(+) = nach DAVIDSON⁹

In den letzten Jahren wurden einzelne oder kombinierte Sätze dieser Phagen vielfach zur Typisierung von Staphylokokken vom Rind herangezogen.

PARGAONKER, COLES und EISENSTARK³⁴ wählten aus 2 Phagensätzen 6 Phagen aus (A8, A10, P87, P102, S₂, S₅), mit denen sie von 210 "bovinen" Kulturen 195 typisieren konnten. Bei den Untersuchungen von Staphylokokken, die in England, Kanada und Kansas, USA, isoliert worden waren, zeigte sich, daß die Kulturen verschiedenen Phagentypen angehörten. Bei der Zusammenstellung eines Phagensatzes sollte die regional unterschiedliche Phagenempfindlichkeit berücksichtigt werden. JONES und BENNET²¹ untersuchten 412 Staphylokokkenkulturen aus Milchproben mit 3 verschiedenen Phagensätzen. Mit den Phagen der Internationalen Serie waren 56 %, mit den Seto-Wilson-Phagen 70 % und mit den Coles-

Eisenstark-Phagen 92 % typisierbar. SLANETZ und BARTLEY⁴⁶ konnten mit dem Internationalen Phagensatz und den Seto-Wilson-Phagen von 1417 Staphylokokkenkulturen 85 % typisieren. Mit den Seto-Wilson-Phagen allein waren 72 % der Kulturen typisierbar. Dabei zeigte sich, daß die Phagen S₃ und S₅ dieselben Stämme lysierten wie die Phagen 7 und VA₄ der Internationalen Serie. Als besonders wertvoll zur Ergänzung des Internationalen Phagensatzes erwiesen sich die Phagen S₂ und S₆. Auch GERSHMAN und WITTER¹⁷ fanden bei 85 "bovinen" Staphylokokkenkulturen 74 % typisierbare Stämme mit dem Phagen 42D und den Seto-Wilson-Phagen. Der Phage S₆ lysierte 26 Kulturen, der Phage S₅ dagegen keine. PARISI und BALDWIN³⁵ fanden bei der Typisierung von 350 Staphylokokkenkulturen vom Rind mit den Seto-Wilson-Phagen einen geringeren Prozentsatz typisierbarer Stämme (80 %) als mit den Phagen der Internationalen Serie (86 %). Bei der Untersuchung von 124 Staphylokokkenkulturen aus Milchproben beobachtete MARSHALL²⁶, daß mit dem Internationalen Basissatz nur 40 % der Kulturen typisierbar waren, gegenüber 85 % mit den Davidson-Phagen. Nachdem GEDEK¹⁵ 49 "bovine" Staphylokokkenkulturen mit den Phagen der Internationalen Serie getestet hatte, stellte er aus dem Basissatz und den Davidson-Phagen einen Satz zusammen, mit dem er von 506 Staphylokokkenkulturen 92,7 % typisieren konnte. Allein 87,9 % der Kulturen reagierten mit den Phagen in der RTD. Von den 506 Kulturen gehörten 50 (9,9 %) zur Lysogruppe I, 34 (6,7 %) zur Lysogruppe III und 259 (45,3 %) zur Lysogruppe IV. Er erhielt 113 verschiedene Lysebilder, von denen 23 mehr als zweimal vorkamen. Allein 24,8 % der typisierbaren Stämme entfielen auf das Lysebild 42D/102/107/108/111. Da eine befriedigende Differenzierung der Gruppe IV-Stämme noch nicht möglich war, wurde eine weitere Unterteilung durch einfach durchzuführende biochemische Reaktionen empfohlen.

Die Phagentypisierung von S. aureus vom Rind ist somit bisher in den verschiedenen Laboratorien nicht einheitlich durchgeführt worden. Es wurden verschiedene Phagensätze und uneinheitliche Methoden angewendet. Zudem sind die Phagensätze nicht genügend charakterisiert worden. Deshalb regte DAVIDSON⁹ kürzlich in einem Rundschreiben an Laboratorien, die sich mit der Lysotypie von S. aureus tierischen Ursprungs beschäftigen, die Aufstellung eines standardisierten Phagensatzes zur Typisierung "boviner" Staphylokokken an. Er schlug folgende Phagen vor:

29, 52A, AC₁, 77Ad,
3A,
6, 53, 75, 77,
42D, 102, 107, 1363-14,
78, S₁, S₆, 883.

Mit diesem Phagensatz waren in England von 454 Staphylokokkenkulturen 86,8 % typisierbar.

Es wäre nun festzustellen, ob der von DAVIDSON vorgeschlagene Phagensatz auch zur Typisierung in Deutschland vorkommender Staphylokokken vom Rind geeignet ist, oder ob Änderungen angezeigt sind.

3,0 Material und Methoden

3,1 Material

3,11 Staphylokokken

Als Untersuchungsmaterial dienten 1107 Staphylokokkenkulturen, die mir auf schriftliche Anfrage in dankenswerter Weise zur Verfügung gestellt wurden (Tab. IV). Alle Kulturen wurden aus Milchproben von Kühen mit oder ohne Sekretionsstörungen isoliert.

Tabelle IV

Herkunft der Staphylokokkenkulturen

Herkunft	Zahl der Staph.-Kulturen	
	koag.-pos.	koag.-neg.
Staatl. Tierärztliches Untersuchungsamt, Aulendorf (Aul.)	430	34
Bundesversuchs- u. Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, Inst. für Milchhygiene, Kiel	512	-
Behringwerke Marburg u. 8 andere vet. med. Inst. (aVMI) (1)	131	-

- (1) Staatl. Vet. Untersuchungsamt, Bonn
Staatl. Vet. Untersuchungsamt, Braunschweig
Staatl. Vet. Untersuchungsamt, Frankfurt
Tierhygienisches Institut, Freiburg
Tierärztliches Institut d. Universität Göttingen
Staatl. Vet. Untersuchungsamt, Krefeld
Staatl. Vet. Untersuchungsamt, Münster
Staatl. Tierärztl. Untersuchungsamt, Stuttgart

3,12 Phagen

Die Staphylokokkenkulturen wurden zunächst mit den Phagen der Internationalen Serie (IS) typisiert. Die 20 Phagen und ihre Anreicherungsstämme wurden mir von Herrn Prof. Dr. Brandis, Göttingen, überlassen.

Gruppe I	29, 52, 52A, 79, 77Ad
Gruppe II	3A, 3C, 55, 71
Gruppe III	6, 7, 42E, 47, 53, 54, 77
Gruppe IV	42D
Gruppe M	81, 187, 825

Anschließend wurden die gleichen Kulturen mit dem von DAVIDSON⁹ empfohlenen Phagensatz (Davidson-Phagensatz, DPS), der aus 10 Phagen der IS und 7 "bovinen" Phagen besteht, typisiert.

Gruppe I	29, 52A, AC ₁ ⁺ , 77Ad
Gruppe II	3A
Gruppe III	6, 53, 75, 77
Gruppe IV	42D, 102 ⁺ , 107 ⁺ , 1363-14 ⁺
Gruppe M ⁽¹⁾	78, S ₁ ⁺ , S ₆ ⁺ , 883 ⁺

Die "bovinen" Phagen und ihre Anreicherungsstämme wurden mir von Herrn Dr. Davidson, Weybridge, England, zur Verfügung gestellt.

⁺ = "bovine" Phagen

(1) M = "Miscellaneous" (In Anlehnung an den Int. Phagensatz wurden auch diese noch nicht endgültig eingruppierten Phagen in der Gruppe "M" zusammengefaßt)

3,13 Nährmedien

Als Nähr- und Anreicherungsmedien dienten "Trypticase-Soy-Broth" (TSB) ⁽¹⁾ und "Trypticase-Soy-Agar" (TSA) ⁽¹⁾. Zur Anreicherung der Phagen in Bouillonkulturen wurden 100ml-Erlenmeyer-Kolben mit 20 ml TSB beschickt. Die Anreicherung in Weichagarkulturen erfolgte in Petrischalen von 15 cm Durchmesser. Auf eine etwa 5 mm hohe TSA-Schicht wurden 10 ml Weichagar aufgegossen. Zur Herstellung von Weichagar wurde zu TSB 0,5 % fein gepulverter Agar-Agar ⁽²⁾ gegeben. Allen Anreicherungsmedien wurde 0,02 % Kalziumchlorid zugesetzt.

3,2 Methoden

Bei der Anreicherung und Austitrierung der Phagen, der Bestimmung des Lysespektrums und der eigentlichen Typisierung der Staphylokokkenkulturen wurde im wesentlichen nach den Bestimmungen des "Internationalen Subkomitees für Staphylokokkentypisierung" (BLAIR und WILLIAMS¹) verfahren.

3,21 Titration der Phagen

Etwa 2 ml einer 6 Stunden bei 37°C bebrüteten Bouillonkultur des homologen Anreicherungsstammes wurden auf vorge-trocknete TSA-Platten gebracht, durch Hin- und Herbewegen gleichmäßig verteilt und der Überstand abpipettiert. Von den Phagenpräparationen wurde eine 10fache Verdünnungsreihe bis 10^{-7} angelegt. Nachdem die Bouillon auf den Agarplatten eingetrocknet war, wurde jeweils 1 Tropfen jeder Verdünnungsstufe mit getrennten Kapillarpipetten auf markierte Felder der Agarplatte aufgetropft. Die Platten wurden über Nacht bei 37°C bebrütet. Am nächsten Tag wurden

(1) Baltimore Biological Laboratories (BBL), Baltimore, USA

(2) Riedel de Haen AG, Seelze-Hannover

die Lysereaktionen abgelesen und wie folgt protokolliert:

- ++ = mehr als 50 Phagenlöcher und konfluierende Lyse
- + = 20 - 50 Phagenlöcher
- ± = weniger als 20 Phagenlöcher

Die RTD war die höchste Verdünnungsstufe, die gerade noch konfluierende Lyse ergab (Abb. 1, siehe Anhang).

3,22 Anreicherung der Phagen

Die Phagen 3C, 55, 71, 6, 7, 42E, 53, 54, 75, 77, 825 und alle "bovinen" Phagen wurden in Bouillonkulturen angereichert. Dazu wurde dem Anreicherungsmedium Bouillonkultur des homologen Anreicherungsstammes, die über Nacht bei 37°C bebrütet worden war, und Phagen in der Menge zugesetzt, daß die Staphylokokken 1 : 100 und die Phagen zu einer RTD verdünnt wurden. Nach 6 Stunden Bebrütung bei 37°C auf einer Rundschüttelmaschine⁽¹⁾ wurde das Lysat 15 Minuten bei 7750 x g zentrifugiert. Der Überstand wurde in der oben beschriebenen Weise austitriert. Zeigte die neue Anreicherung eine RTD in einer niedrigeren Verdünnung als 10⁻³, so wurde sie nicht weiter verwendet. Gelungene Anreicherungen (RTD in einer Verdünnung von 10⁻³ und höher) wurden filtriert⁽²⁾ und abermals austitriert, um gegebenenfalls einen durch die Filtration bedingten Titerabfall zu erkennen.

Die Phagen 29, 52, 52A, 79, 77Ad, 3A, 47, 42D, 81 und 187 wurden in Weichagarkulturen angereichert. Nach Abkühlung auf 45°C wurden zu 10 ml Weichagar Bouillonkultur des homologen Anreicherungsstammes, die 6 Stunden bei 37°C bebrütet worden war, und Phagen in gleicher Menge wie bei der Anreicherung in Bouillonkulturen zugesetzt. Der Weich-

⁽¹⁾ Modell RC4 der Fa. A. Kühner, Basel

⁽²⁾ Millipore-Filter, Typ DA, Fa. Ing. A. Hofmann, Bamberg

agar wurde als Oberschicht ausgegossen. Nach 18 Stunden Bebrütung, die im allgemeinen bei 37°C erfolgte, - die Phagen 29, 52 und 187 wurden bei 30°C bebrütet -, wurde die obere Weichagarschicht mit 10 ml TSB abgekratzt und mit einem sterilen Glasspatel zerkleinert. In einem 50ml-Zentrifugenbecher wurden restliche Agarstückchen durch mehrmaliges Aufziehen in eine Pipette nochmals zerkleinert. Die weitere Behandlung erfolgte wie bei der Anreicherung in Bouillonkulturen.

3,23 Lysepektrum der Phagen

Zur Bestimmung des Lysepektrums der Phagen der IS und des DPS wurden die unverdünnten Phagenpräparationen auf die Anreicherungsstämmen aller Phagen aufgetropft. Zeigte sich eine Lyse- oder Hemmungsreaktion mit einem Teststamm, so wurde die Phagenpräparation in 10fachen Verdünnungsstufen auf dem betreffenden Stamm ausstitriert. Die Verdünnungsstufe der Phagenpräparation, die auf dem Teststamm eine ++Reaktion ergab, wurde mit der auf dem homologen Anreicherungsstamm in gleicher Stärke reagierenden Verdünnungsstufe verglichen und wie folgt in Beziehung gesetzt:

- 5 = eine ++Reaktion in derselben Verdünnungsstufe wie auf dem homologen Anreicherungsstamm
- 4 = eine ++Reaktion in der Verdünnungsstufe, die 10^{-2} mal konzentrierter ist als diejenige, die auf dem homologen Anreicherungsstamm eine ++Reaktion ergibt
- 3 = eine ++Reaktion in der Verdünnungsstufe, die 10^{-3} - 10^{-4} mal konzentrierter ist als diejenige, die auf dem homologen Anreicherungsstamm eine ++Reaktion ergibt

2 = eine ++Reaktion in der Verdünnungsstufe, die 10^5 - 10^6 mal konzentrierter ist als diejenige, die auf dem homologen Anreicherungsstamm eine ++Reaktion ergibt.

1 = schwache Lyse (+, $\pm$)

0 = Hemmungsreaktion (1)

Die Anreicherungen der Phagen der IS wurden verwendet, wenn die Reaktionen auf den einzelnen Teststämmen nicht mehr als 1 Stufe von den Internationalen Standardwerten abwichen. Alle 14 Tage wurde die Wirksamkeit der RTD auf den homologen Anreicherungsstämmen geprüft.

3,24 Typisierung der Staphylokokkenkulturen

Zur eigentlichen Typisierung wurden etwa 2 ml einer 6 Stunden bei 37°C bebrüteten Bouillonkultur der zu untersuchenden Staphylokokken in der oben beschriebenen Weise auf TSA-Platten gebracht. Mit einem Typisiergerät⁽²⁾ (Abb. 2, siehe Anhang) wurden die Phagen aufgetragen. Durch die Anbringung von jeweils 21 Ösen an den Enden eines horizontal gelagerten Armes ermöglichte das Gerät bei jedem Niederdruck des Hebelarmes 21 verschiedene Phagenpräparationen gleichzeitig aufzutupfen. Die Staphylokokkenkulturen wurden zunächst mit den Phagen in der RTD typisiert. Reagierten die Kulturen nicht oder nur schwach, wurden sie mit einer 1000 mal konzentrierteren Phagenpräparation (1000 x RTD) nochmals geprüft. Die Platten wurden über

-
- (1) Bei einer Hemmungsreaktion werden die Staphylokokken von den Phagen nicht lysiert, sondern im Wachstum gehemmt.
- (2) Das Gerät wurde in Anlehnung an ein ähnliches Gerät des Instituts für Hygiene der Univ. Göttingen in Zusammenarbeit mit Herrn Göttlicher angefertigt.

Nacht bei 37°C bebrütet. Die Phagenreaktionen wurden über einem Lichtkasten bei indirekter Beleuchtung mit einer Lupe abgelesen. Die Lupe erleichterte das Erkennen feiner Phagenlöcher. Alle Phagen, die einen Stamm mit einer ++Reaktion lysierten, ergaben das Lysebild oder den Phagentyp. Stämme, die von einem oder mehreren Phagen einer Lysogruppe lysiert wurden, wurden in der entsprechenden Gruppe zusammengefaßt. Lysierten Phagen mehrerer Lysogruppen einen Stamm, so wurde er der entsprechenden "gemischten Gruppe" zugeordnet. (Abb. 3, siehe Anhang)

4,0 Ergebnisse

4,1 Charakterisierung der Phagen

Zur Charakterisierung der Phagen wurde das Lysespektrum der Phagen beider Sätze bestimmt.

Die Tab. V zeigt das Lysespektrum der Phagen des DPS. Die Phagen der Lysogruppen I, II, III und IV reagierten hauptsächlich mit den Teststämmen der entsprechenden Gruppen in verschiedener Stärke. Die Phagen 53, 75 und 77 reagierten, außer mit den Teststämmen der Lysogruppe III, noch mit dem Stamm HAC1/2 (Anreicherungsstamm für den Phagen AC₁) und zum Teil noch mit den Stämmen 102 und 107. Die Phagen der Gruppe M (78, S₁, S₆, 883) lysierten nur die homologen Anreicherungsstämmen dieser Gruppe. Der Phage S₆ reagierte noch mit den Stämmen 102, 107 und M8 (Anreicherungsstamm für den Phagen 1363-14) der Lysogruppe IV in der Reaktionsstufe 3. In der gleichen Reaktionsstufe lysierte auch der Phage 78 den Teststamm 6. Der Phage 883 lysierte den Teststamm 3A in der gleichen Stärke wie seinen eigenen Anreicherungsstamm. Auf dem Teststamm S₆ verursachten alle Phagen, außer den Phagen 77Ad, 3A, 53, 75 und S₆, Hemmungsreaktionen.

Das Lysespektrum der Phagen der IS ergab mit geringen Abweichungen, die nicht mehr als eine Reaktionsstufe betrugen, die von BLAIR und WILLIAMS¹ beschriebenen Standardwerte.

4,2 Lysotypieergebnisse

4,21 Typisierbarkeit der Staphylokokkenkulturen

Zunächst wurden 1073 koagulasepositive Staphylokokkenkulturen und 34 koagulasenegative Kulturen mit den Phagen der IS untersucht und anschließend dieselben Kulturen mit dem

Tabelle V

Lysepektrum des Davidson-Phagensatzes

Lyso- gruppen		Teststämme																
		I					II	III				IV				M		
Phagen		29	52A	HAC 1/2	77 Ad	3A	6	53	75	77	42D	102	107	M8	78	S ₁	S ₆	94
I	29	5		5		1											0	
	52A	0	5			1											0	
	AC1		1	5								1	1				0	
	77Ad			1	5		0	0	4									
II	3A					5												
	6					1	5	0									0	
III	53			3	0	1	4	5	4	4		4	4					
	75			4	0			5	5									
	77			4	0	1	5	4	5	5		4					0	
	42D					1			0		5	4	4	4			0	
IV	102	0	0	0		2			0		2	5	5	5			0	
	107			4								5	5	5			0	
	1363-14						4		0		1		5	5			0	
	78			0			3								5		0	
M	S ₁															5	0	
	S ₆											3	3	3			5	
	883																0	5

Die Zahlen geben
die Reaktions-
stärke an
(siehe Seite 22)

DPS. Alle Phagenpräparationen kamen in der RTD zur Anwendung. Kulturen, die nicht mindestens eine ++Reaktion mit einem Phagen zeigten, wurden mit der 1000fachen RTD nochmals geprüft. Ergaben sich auch mit dieser Phagenverdünnung nicht mindestens ++Reaktionen, galten die Kulturen als nicht-typisierbar.

Wie aus der Tab. VI ersichtlich ist, waren mit den Phagen der IS von den 1073 Staphylokokkenkulturen 276 (25,8 %) in der RTD und 508 (47,3 %) in der 1000fachen RTD typisierbar. Mit dem DPS waren 676 (63,0 %) Kulturen in der RTD und 225 (21,0 %) in der 1000fachen RTD typisierbar. Somit waren insgesamt 784 (73,1 %) Kulturen mit den Phagen der IS typisierbar, gegenüber 901 (84,0 %) mit dem DPS. Regionale Unterschiede wurden bei der Typisierung mit den Phagen der IS in der RTD beobachtet: von den 430 Aulendorfer Kulturen wurden 82 (19,1 %), von den 512 Kieler Kulturen 176 (34,4 %) und von den 131 Kulturen der aVMI 18 (13,7 %) lysiert. Die Typisierung mit dem DPS ergab keine wesentlichen regionalen Unterschiede. Den geringsten Prozentsatz typisierbarer Kulturen hatten bei beiden Untersuchungen die Kulturen der VMI.

Wie nicht anders zu erwarten, waren die 34 koagulasenegativen Staphylokokkenkulturen gegenüber allen Phagen bei der Sätze resistent.

Tabelle VI

Typisierbarkeit der Staphylokokkenkulturen

Staph. Kult.	Herkunft	Aulendorf		Kiel		aVMI		insges. unters. Kulturen	
	Zahl	430		512		131		1073	
Phagensatz		a	b	a	b	a	b	a	b
Typisierbar RTD		82	272	176	328	18	76	276	676
§		19,1	63,2	34,4	64,1	13,7	58,0	25,8	63,0
Typisierbar 1000x RTD		200	125	241	66	67	15	508	225
§		46,5	29,1	47,1	16,6	51,2	11,4	47,3	21,0
Nicht-typisier- bare Kulturen		148	33	95	99	46	40	289	172
§		34,3	7,7	18,5	19,3	35,1	30,6	26,9	16,0

aVMI = andere vet.med. Institute

a = Internationaler Phagensatz

b = Davidson-Phagensatz

RTD = Routine-Test-Dosis

4,22 Reaktionshäufigkeit der einzelnen Phagen

In den Abbildungen 4 und 5 sind die Prozentzahlen der von den einzelnen Phagen in der RTD und der 1000fachen RTD lysierten Staphylokokkenkulturen dargestellt.

Von den 1073 koagulasepositiven Staphylokokkenkulturen lysierte der Phage 42E der IS (Abb. 4) mit 522 (48,6 %) die meisten Kulturen. Von den Phagen 42D und 29 wurden 445 (41,4 %) bzw. 407 (37,9 %) Staphylokokkenkulturen lysiert. Der Phage 187 lysierte keine der Kulturen und die Phagen 77Ad mit 5,9 % und 3C mit 4,6 % nur sehr wenige. Auch hier waren regionale Unterschiede in der Phagenempfindlichkeit zu beobachten. Von den 430 Aulendorfer Kulturen lysierte der Phage 42D mit 151 (35,1 %) die meisten Kulturen. Es folgten die Phagen 29 mit 144 (33,5 %) und 42E mit 100 (23,2 %) lysierten Stämmen. Zwar wurden von den 512 Kieler Kulturen mit 378 (73,8 %) die weitaus meisten von dem Phagen 42E lysiert, doch hatte hier der Phage 81 mit 264 (51,5 %) lysierten Stämmen seine größte Reaktionshäufigkeit. Mit 229 (44,7 %) und 220 (43,8 %) lysierten Stämmen reagierten die Phagen 42D bzw. 29 fast gleich häufig. Von den 131 Staphylokokkenkulturen der aVMI wurden nur wenige von den Phagen in der RTD lysiert. Mit der 1000fachen RTD reagierten 63 (48,1 %) Stämme mit dem Phagen 42D und 44 (33,6 %) mit dem Phagen 42E.

Bei der Typisierung mit dem DPS (Abb. 5) lysierte der Phage 102 mit 465 (43,3 %) der 1073 Kulturen bei weitem die meisten Stämme. Mit fast gleicher Häufigkeit folgten die Phagen 1363-14 mit 374 (34,8 %) und 107 mit 365 (34,0 %) lysierten Stämmen. Mit den Phagen 883 (0,4 %), 78 (0,6 %), AC₁ (0,4 %) und 3A (0,8 %) reagierte nur eine geringe Anzahl der Kulturen. Auch hierbei waren erhebliche regionale Unterschiede in der Phagenempfindlichkeit der Staphylo-

kokken zu beobachten. Von den 430 Aulendorfer Kulturen reagierten 289 (67,2 %) mit dem Phagen 102. Mit diesem Phagen reagierten von den 512 Kieler Kulturen jedoch nur 112 (21,8 %) Stämme. Unterschiedliche Reaktionshäufigkeit in diesen beiden Untersuchungsgruppen zeigten auch die Phagen 107 und 1363-14. Auch von den 131 Kulturen der aVMI wurden die meisten von den Phagen 102, 107 und 1363-14 lysiert. Auffallend in dieser Gruppe waren die verhältnismäßig häufigen Lysereaktionen des Phagen S₁.

Abb.4 Reaktionshäufigkeit der Phagen der Internationalen Serie

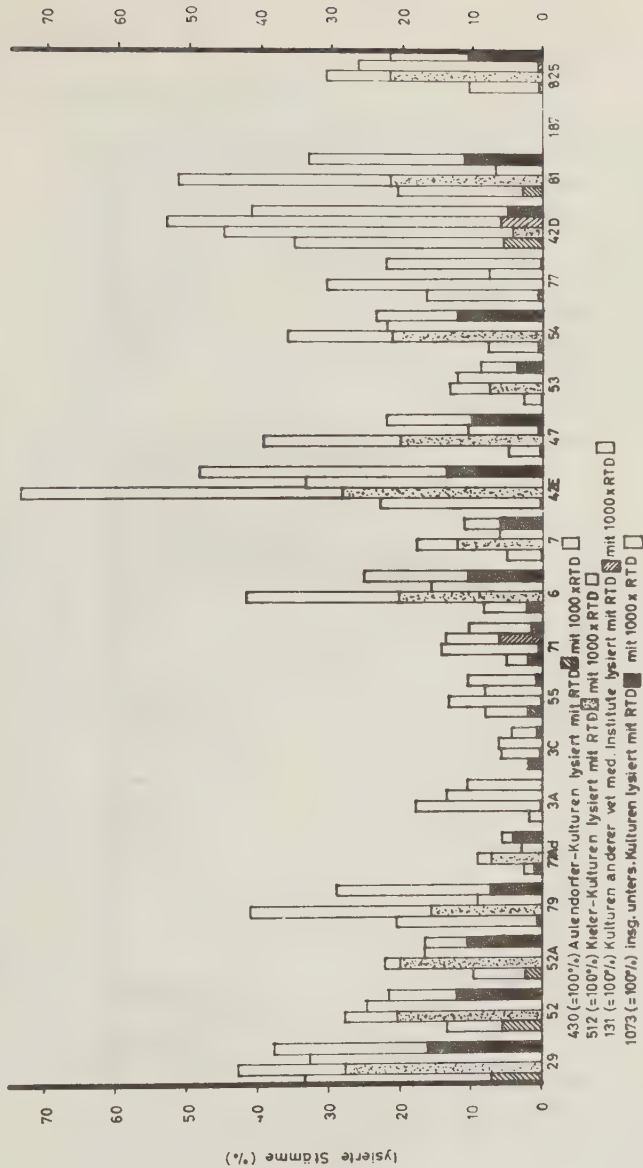
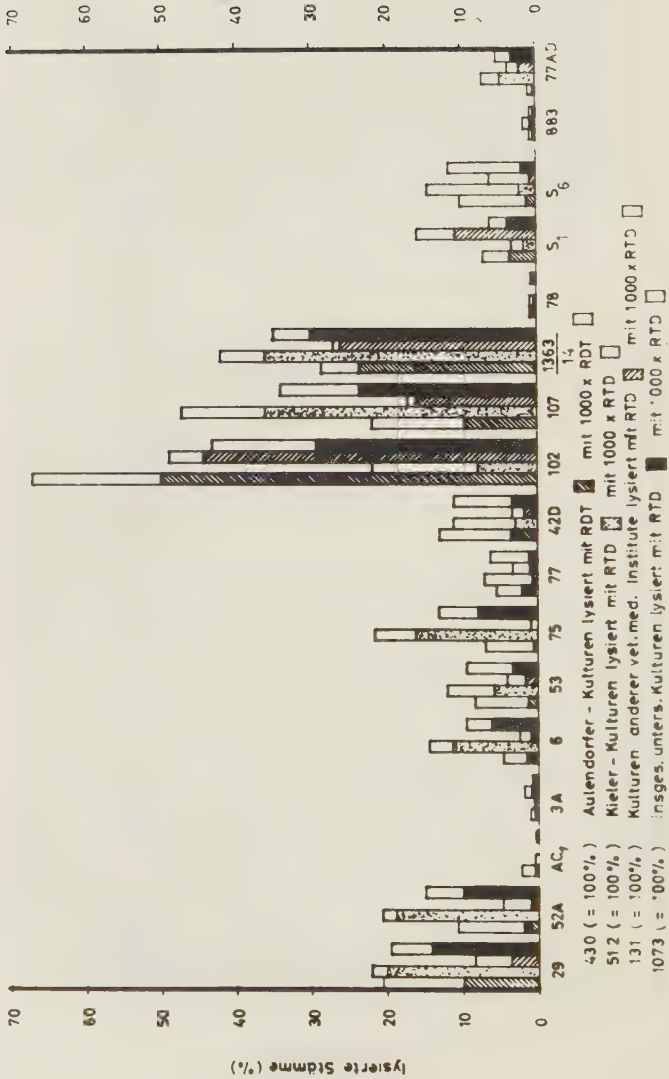


Abb. 5 Reaktionshäufigkeit der Phagen des Davidson - Satzes



4,23 Lysebilder

4,231 Anzahl der Lysebilder

In der Tabelle VII sind die Zahlen der bei der Typisierung mit der RTD ermittelten Lysebilder zusammengestellt. Insgesamt wurden mit den Phagen der IS von 276 Kulturen 68 verschiedene Lysebilder ermittelt, von denen 17 mehr als fünfmal beobachtet wurden. Mit dem DPS ergaben sich bei 676 Kulturen 71 verschiedene Lysebilder, von denen 14 mehr als fünfmal vorkamen. Somit konnte mit den Phagen der IS eine weitgehendere Differenzierung der untersuchten Kulturen erzielt werden, da hier nur durchschnittlich 4 Stämme das gleiche Lysebild hatten, gegenüber 10 Stämmen mit dem DPS.

4,232 Häufigkeit bestimmter Lysebilder

Die Tabelle VIIIA enthält die wichtigsten Lysebilder der mit der RTD typisierbaren Staphylokokkenkulturen. Von den 276 mit den Phagen der IS in der RTD typisierbaren Kulturen entfielen jeweils 34 (12,3 %) auf die Lysebilder 42D und 29/52/52A/79/6/7/42E/47/54/81/825. Dem Lysebild 102 gehörten von 676 mit dem DPS in der RTD typisierbaren Kulturen 129 (19,1 %) an. Das Lysebild 102/1363-14 hatten 12,3 % der Stämme. Bei der Betrachtung hinsichtlich der Herkunft der Staphylokokkenkulturen (Tab. VIIIB) fallen bei der Typisierung mit dem DPS in allen 3 Untersuchungsgruppen die zahlreichen Lysebilder unter Beteiligung der Phagen 102, 107 und 1363-14 auf. Das einzige Lysebild der Phagen der IS, das in allen 3 Untersuchungsgruppen vorkam, war 42D. Die Lysebilder 29 und 71 dagegen kamen nur in 2 Untersuchungsgruppen vor. Alle anderen Lysebilder waren auf eine der 3 Untersuchungsgruppen beschränkt. Bei der Typisierung mit dem DPS wurden die Lysebilder 102, 102/1363-14 und 102/107/1363-14 in allen 3 Untersuchungsgruppen gefunden. Die Lysebilder 102/107 und 29/77Ad/102/1363-14 kamen nur bei den Aulendorfer- und den Kulturen der aVMI vor.

Tabelle VII

Anzahl der Lysebilder der mit der RTD
typisierbaren Staphylokokkenkulturen

Herkunft der Staph.Kulturen	Phagen der IS		DPS	
	Zahl d.mit RTD typis. Kulturen	Zahl der Lysebilder	Zahl d.mit RTD typis. Kulturen	Zahl der Lysebilder
Aulendorf	82	20	272	27
Kiel	176	49	328	44
aVMI	18	3	76	16
insges.unters. Kulturen	276	68	676	71

IS = Internationale Serie

DPS = Davidson-Phagensatz

aVMI = andere vet.med. Institute

4,233 Länge der Lysebilder

Die Länge der Lysebilder (Zahl der Phagen je Lysebild), die bei der Typisierung mit den Phagen in der RTD ermittelt wurden, ist in der Tabelle IX angegeben. Daraus ist ersichtlich, daß die Staphylokokkenkulturen bei der Typisierung mit den Phagen der IS durchschnittlich bedeutend längere Lysebilder hatten als bei der Typisierung mit dem DPS. Ein Lysebild unter Beteiligung von 10 und mehr Phagen hatten noch 65 (23,6 %) der 276 mit den Phagen der IS typisierbaren Kulturen, gegenüber 3 (0,3 %)

der 676 mit dem DPS typisierbaren Kulturen. Trotzdem reagierten bei beiden Untersuchungen die meisten Stämme nur mit einem Phagen. Während die Aulendorfer Kulturen zum größten Teil Lysebilder bis zu 6 Phagen hatten, reagierten viele Kieler Kulturen noch mit 6 und mehr Phagen. Somit kam die regional unterschiedliche Phagenempfindlichkeit der Kieler und Aulendorfer Kulturen auch in der Länge der Lysebilder zum Ausdruck.

Tabelle VIIIA

Häufigkeit der wichtigsten Lysebilder der mit der
RTD typisierbaren⁽¹⁾ Staphylokokkenkulturen

Phagen der Internationalen Serie	Zahl der Kulturen	%	Davidson-Phagensatz	Zahl der Kulturen	%
42D	34	12,3	102	129	19,1
29/52/52A/79/6/7/42E/47/54/81/825	34	12,3	102/1363-14	83	12,3
29/52/52A/79/42E	26	9,5	107/1363-14	78	11,5
29	19	6,9	107	48	7,1
29/52	17	6,1	102/107/1363-14	45	6,7
3C/55/71	9	3,3	29/52A/107/1363-14	31	4,6
29/77Ad/6/42E/47/53/54/81/825	8	2,9	102/107	24	3,5
77Ad/6/42E/47/53/54/81/825	8	2,9	29	19	2,8
29/52/52A/6/7/42E/47/54/81/825	7	2,5	1363-14	19	2,8
6/42E/47/54/81/825	6	2,2	S ₁	18	2,6
29/81	6	2,2	6/75	15	2,2
57 weitere Lysebilder	102	36,9	29/52	14	2,1
			42D/102/1363-14	12	1,8
			S ₆	11	1,6
			57 weitere Lysebilder	116	17,1

(1) siehe auch Tab. VI

Tabelle VIIIf

Häufigkeit der wichtigsten Lysebilder der mit der RTD typisierbaren ⁽¹⁾ Staphylokokkenkulturen verschiedener Herkunft

Herkunft der Staph.Kulturen	Phagen der Internationalen Serie	Zahl der Kulturen	%	Davidson-Phagensatz	Zahl der Kulturen	%
Aulendorf	42D	18	21,9	102	98	36,0
	29/52	17	20,7	102/1363-14	54	19,9
	3C/55/71	9	11,0	102/107/1363-14	21	7,8
	29/81	6	7,3	102/107	17	6,2
	6	5	6,1	29	17	6,2
	6/42D	5	6,1	42D/102/1363-14	11	4,0
	14 weitere Lysebilder	22	26,9	1363-14	9	3,3
				29/77/S ₁	6	2,2
				42D/102	5	1,9
				18 weitere Lysebilder	34	12,5
Kiel	29/52/52A/79/6/7/42E/47/54/81/825	34	19,4	107/1363-14	75	22,8
	29/52A/79/42E	26	14,8	107	47	14,2
	29	17	9,6	29/52A/107/1363-14	31	9,4
	42D	8	4,5	6/75	15	4,6
	77Ad/6/42E/47/53/54/81/825	8	4,5	102/1363-14	14	4,3
	29/77Ad/6/42E/47/53/54/81/825	8	4,5	102/107/1363-14	13	4,0
	29/52/52A/6/7/42E/47/54/81/825	7	4,0	102	13	4,0
	6/42E/47/54/81/825	6	3,4	29/52A	11	3,3
	41 weitere Lysebilder	62	35,3	S ₆	11	3,3
				29/52A/75	10	3,0
				77Ad/6/53/75	10	3,0
				33 weitere Lysebilder	79	24,1
avMI ⁽²⁾	71	9	50,0	102	18	23,7
	42D	8	44,4	102/1363-14	15	19,7
	47/825	1	5,6	S ₁	14	18,4
				102/107/1363-14	11	14,5
				102/107	6	7,9
				11 weitere Lysebilder	12	15,8

(1) siehe auch Tab. VI

(2) andere vet.med. Institute

Tabelle IX

Länge der Lysebilder der mit der RTD typisierbaren (1) Staphylokokkulturen

Staphylokokken- Kulturen		Zahl der Phagen je Lysebild											
		1		2		3		4-6		7-9		10 und mehr	
		a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
Aul.	Zahl	30	134	32	89	13	45	5	2	-	1	2	1
	%	36,6	49,2	39,0	32,7	15,8	16,6	6,2	0,7	-	0,4	2,4	0,4
Kiel	Zahl	26	83	2	119	1	43	39	67	45	14	63	2
	%	14,8	25,3	1,1	36,4	0,6	13,1	22,2	20,4	25,6	4,2	35,7	0,6
avMI	Zahl	17	34	1	22	-	10	-	10	-	-	-	-
	%	94,4	44,7	5,6	28,9	-	13,2	-	13,2	-	-	-	-
insges.unters. Kulturen		73	251	35	230	14	98	44	79	45	15	65	3
%		26,6	37,2	12,7	34,1	5,1	14,6	16,0	11,7	16,0	2,1	23,6	0,3

(1) siehe auch Tab. VI

a = Internationaler Phagensatz

b = Davidson-Phagensatz

avMI = andere vet.med. Institute

Aul. = Aulendorf

4,24 Lysogruppen

Die Verteilung der mit der RTD typisierbaren Staphylokokkenkulturen auf die häufigsten Lysogruppen der beiden Phagensätze zeigt die Tabelle X. Stämme, die in die aufgeführten Gruppen nicht einzuordnen waren, wurden in der Spalte "weitere Kombinationen" zusammengefaßt. Bei der Typisierung mit den Phagen der IS gehörten von 276 Kulturen 50 (18,1 %) zur Gruppe I, 19 (6,8 %) zur Gruppe II, 6 (2,2 %) zur Gruppe III, 34 (12,3 %) zur Gruppe IV und 2 (0,8 %) zur Gruppe M. Von den kombinierten Gruppen war die Gruppe I/III mit 33 (12,0 %) Kulturen am häufigsten vertreten. Bemerkenswert war der hohe Anteil (45,6 %) von Kulturen mit solchen Lysebildern, die sich in die aufgeführten Gruppen nicht einordnen ließen. Bei der Typisierung mit dem DPS gehörten von 676 Kulturen allein 442 (65,5 %) zur Lysogruppe IV. In die kombinierten Gruppen I/III gehörten 46 (6,8 %) Kulturen, I/IV 43 (6,4 %) Kulturen und I/III/IV 28 (4,1 %) Kulturen. Nur 24 (3,5 %) Stämme ließen sich nicht in die einzeln aufgeführten Gruppen einordnen. Wie durch Addition der Prozentzahlen in den Spalten I - M zu erkennen ist, waren mit dem DPS 79,2 % und mit den Phagen der IS 40,2 % der Kulturen in die eigentlichen Lysogruppen dieser Phagensätze einzuordnen. Auch in der Lysogruppenzugehörigkeit ergaben sich regionale Unterschiede. Während die meisten Aulendorfer Kulturen der Lysogruppe I angehörten, hatten die meisten Kieler Kulturen solche Lysebilder, die sich nicht einordnen ließen.

Tabelle X

Verteilung der mit der RTD typisierbaren (1) Staphylokokkenkulturen auf Lysogruppen

Staphylo- kokken- kulturen		Lysogruppen																	
		I		II		III		IV		M		I/III		I/III/IV		I/IV		weitere Kombinat.	
		a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
Zahl	Aul.	33	21	9	-	6	-	18	217	2	7	1	6	-	1	-	7	13	13
		40,3	7,7	10,9	-	7,4	-	21,9	79,7	2,4	2,6	1,2	2,2	-	0,4	-	2,6	15,9	4,8
Zahl	Kiel	17	13	1	-	-	24	8	173	-	11	32	40	5	26	1	33	112	8
%		9,6	4,0	0,6	-	-	7,3	4,5	52,8	-	3,3	18,1	12,2	2,8	7,9	0,6	10,1	63,7	2,4
Zahl	aVMI	-	-	9	-	-	4	8	52	-	13	-	-	-	1	-	3	1	3
%		-	-	50,0	-	-	5,3	44,4	68,7	-	17,3	-	-	-	1,3	-	3,9	5,6	3,5
insges. unters. Kulturen		50	34	19	-	6	28	34	442	2	31	33	46	5	28	1	43	126	24
%		18,1	5,0	6,8	-	2,2	4,1	12,3	65,5	0,8	4,6	12,0	6,8	1,8	4,1	0,4	6,4	45,6	3,5

(1) siehe auch Tab. VI

a = Internationaler Phagensatz

b = Davidson-Phagensatz

aVMI = andere vet.med. Institute

Aul. = Aulendorf

4,25 Häufigkeit von Phagenkombinationen in Lysebildern

Infolge ähnlichen Wirtsspektrums neigen manche Phagen dazu, eine Staphylokokkenkultur gemeinsam zu lysieren. Die Eingruppierung der "bovinen" Phagen, wie sie von DAVIDSON⁹ vorgenommen wurde, sollte aufgrund der Häufigkeit, mit der 2 Phagen eine Staphylokokkenkultur gemeinsam lysierten, untersucht werden. Dazu wurden bei den 676 mit dem DPS in der RTD typisierbaren Staphylokokkenkulturen alle vorkommenden Phagenkombinationen ausgezählt und in den Abbildungen 6 - 9 in Form von Blockdiagrammen dargestellt. Die Gesamtzahl der von dem jeweiligen Bezugsphagen lysierten Stämme wurde gleich 100 % gesetzt. Da die Phagen AC₁, 3A und 883 insgesamt nur mit 7 Staphylokokkenkulturen reagierten, wurden sie in die Blockdiagramme nicht aufgenommen.

Die Häufigkeit gemeinsamer Lyse der Phagen der Lysogruppe I mit den übrigen Phagen zeigt die Abbildung 6. Die Phagen 29 und 52A wurden besonders häufig in den Lysebildern zusammen beobachtet, d. h. von 150 vom Phagen 29 (Bezugsphage) lysierten Kulturen wurden 104 (69,3 %) gleichzeitig vom Phagen 52A lysiert. Umgekehrt wurden von den 105 vom Phagen 52A (Bezugsphage) lysierten Kulturen gleichzeitig 104 (99,1 %) vom Phagen 29 lysiert. Mit dem Phagen 77Ad wurden diese beiden Phagen nur in etwa 10 % der Fälle gemeinsam angetroffen. Von den 150 vom Phagen 29 lysierten Stämmen reagierten gleichzeitig 50 % mit dem Phagen 1363-14, 33,3 % mit dem Phagen 75 und 30 % mit dem Phagen 107. Von den 105 vom Phagen 52A lysierten Kulturen wurden gleichzeitig 67,3 % von dem Phagen 1363-14, 41,9 % von dem Phagen 107 und 43,8 % von dem Phagen 75 lysiert. Der Phage 77Ad reagierte in etwa 50 % der Fälle gemeinsam mit den Phagen 6, 53, 75 der Lysogruppe III. Das war ebensohäufig wie mit dem Phagen 29 und doppelt so häufig wie mit dem Phagen 52A der Lysogruppe I.

Die Phagen der Lysogruppe III (Abb. 7) erschienen zwar häufig miteinander in Lysebildern, doch wurden sie auch oft gemeinsam mit Phagen anderer Gruppen beobachtet. Von den 65 vom Phagen 6 lysierten Stämmen reagierten gleichzeitig 93,8 % mit dem Phagen 75, 55,4 % mit dem Phagen 29 und 47,8 % mit dem Phagen 52A. Der Phage 53 war bei 66,6 % der 36 von ihm lysierten Kulturen gemeinsam mit dem Phagen 75 anzutreffen. Der Phage 75 reagierte bei 73,5 % der 83 von ihm lysierten Stämme mit dem Phagen 6, bei 60,2 % mit dem Phagen 29 und bei 55,4 % mit dem Phagen 52A gemeinsam. Der Phage 77 lysierte nur 13 Kulturen. In diesen Fällen wurde er häufiger in Kombinationen mit den Phagen 29, 52A, 102, 107 und 1363-14 als mit den anderen Phagen der Lysogruppe III angetroffen. Etwa 32 bis 44 % der von den Phagen der Gruppe III lysierten Staphylokokken reagierten auch mit dem Phagen 1363-14. Auffallend zahlreich waren bei den Phagen 77, 53 und 6 die gemeinsamen Lysereaktionen mit dem Phagen S_1 .

Von allen Phagen des DPS wurden die Phagen der Lysogruppe IV (Abb. 8) am häufigsten miteinander bei gemeinsamen Lysereaktionen angetroffen. Lediglich die Phagen 29 und 52A kamen noch in etwa 18 bis 25 % der Fälle mit den Phagen 42D, 107 und 1363-14 gemeinsam vor. Der Phage 102 reagierte, außer mit dem Phagen 1363-14, nur selten gemeinsam mit anderen Phagen. Mit den Phagen der Gruppe M wurden diese Phagen so selten angetroffen, daß sich die Prozentzahlen in dem Blockdiagramm nicht darstellen ließen.

Die Phagen der Gruppe M (Abb. 9) wurden nur selten miteinander beobachtet. Der Phage 78 lysierte nur 5 Kulturen, von denen 2 gleichzeitig mit den Phagen 29, 52A, 6, 107 und 1363-14 reagierten. Gleichzeitig mit dem Phagen S_1 wurde in 37,8 % der Fälle der Phage 29 und in etwa 23 % der Fälle die Phagen 52A, 6, 53 und 77 beobachtet. Der Phage S_6 reagierte, außer mit den Phagen 29 und 52A, nur selten gemeinsam mit anderen Phagen.

[illegible]

4,26 Reproduzierbarkeit von Phagenreaktionen

Da die Phagen 29, 52A, 77Ad, 3A, 6, 53, 77 und 42D der IS auch bei der Typisierung mit dem DPS mitgeführt wurden, sollten übereinstimmende oder nicht übereinstimmende Lysereaktionen dieser Phagen bei beiden Untersuchungen zur Feststellung der Reproduzierbarkeit der Phagenreaktionen herangezogen werden. Als reproduzierbar galten auch solche Reaktionen, die bei der Untersuchung mit den Phagen der IS eine ++ Reaktion zeigten, bei der Untersuchung mit dem DPS aber nur eine + Reaktion und umgekehrt.

Für die Lysereaktionen dieser Phagen ergab sich eine durchschnittliche Reproduzierbarkeit von 64,7 %. Wie aus der Tabelle XI hervorgeht, hatten die Reaktionen des Phagen 52A mit 87,0 % die höchste und die Reaktionen des Phagen 77 mit 12,3 % die niedrigste Reproduzierbarkeit.

Tabelle XI

Reproduzierbarkeit von Phagenreaktionen

		Phagen													
	29		52A		77Ad		3A		6		53		42D		77
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	
	155	59	107	16	37	12	3	2	97	33	41	10	36	29	
Summe	214		123		49		5		130		51		65		16
Reproduzier- barkeit in %	72,4		87,0		75,5		60,0		74,6		80,4		55,4		12,5

a = übereinstimmende Lysereaktion

b = nicht übereinstimmende Lysereaktion

5,0 Diskussion

Das "Internationale Subkomitee für Staphylokokken-Lysotypie" hat einen Staphylokokken-Testphagensatz vereinbart, der in vielen Ländern zur Differenzierung von S. aureus menschlicher Infektionen verwendet wird. Da auch für die Veterinärmedizin diese Bakterien als Erreger von Mastitiden bei Rindern von besonderer Bedeutung sind, wurde vielfach für epidemiologische Untersuchungen versucht, Staphylokokken vom Rind mit diesem Phagensatz zu typisieren. Es hat sich jedoch gezeigt, daß der Internationale Basissatz dazu nur teilweise geeignet ist. Deshalb regte DAVIDSON⁹ kürzlich die Entwicklung eines international vereinbarten Phagensatzes zur Typisierung "boviner" Staphylokokken an.

Da Staphylokokken-Phagen während der Anreicherung leicht Änderungen ihrer Wirtsspezifität unterliegen, ist für die Vergleichbarkeit von Lysotypieergebnissen die Charakterisierung eines Phagensatzes erforderlich. Deshalb wurde zunächst das Lysespektrum des Davidson-Phagensatzes bestimmt. Die Phagen der Internationalen Serie des Davidson-Phagensatzes reagierten im wesentlichen in den von BLAIR und WILLIAMS¹ angegebenen Reaktionsstärken mit den jeweiligen Teststämmen. Da Standardwerte für die "bovinen" Phagen des Davidson-Satzes noch nicht vorliegen, konnten die hier ermittelten Reaktionsstärken nur mit den von DAVIDSON mitgeteilten, aber noch nicht vollständigen Werten verglichen werden. Es ergaben sich im wesentlichen übereinstimmende Reaktionen, die sich manchmal um eine Reaktionsstufe unterschieden. Lediglich die Phagen S₁ und S₆ zeigten mehrere abweichende Reaktionen. Zur Charakterisierung des gesamten Davidson-Phagensatzes, besonders der "bovinen" Phagen, sind weitere Untersuchungen notwendig, da nur die von verschiedenen Anreicherungen eines Phagen ermittelten Lyseeigenschaften zur Festlegung von Standardwerten herangezogen werden können. Es sei hier noch bemerkt, daß die

Anreicherung der Phagen in allen Fällen Schwierigkeiten bereitete. Trotz vielfacher Änderungen des Bakterien-Phagen-Verhältnisses, des Kalziumchloridzusatzes, der Anreicherungsmedien und der Bebrütungstemperaturen und -zeiten konnten ausreichende Titer mitunter erst nach mehrfach wiederholten Anreicherungen erzielt werden. Durch die Filtration bedingte Titerabfälle (BLAIR und WILLIAMS¹) wurden bei der Verwendung der Millipore-Filter nicht beobachtet.

Von den 1073 in dieser Arbeit untersuchten Staphylokokkenkulturen waren mit den Phagen der Internationalen Serie (IS) in der RTD und 100fachen RTD 784 (73,1 %) Kulturen typisierbar. Dabei ist aber zu beachten, daß nur 276 (25,8 %) Kulturen mit der RTD typisierbar waren. FLEMING und PATON¹² fanden mit den Phagen der IS in den gleichen Verdünnungen 69 % typisierbare Kulturen. Einen höheren Prozentsatz typisierbarer Kulturen ermittelten LÖKEN und HOYT²⁴ (78 %), die die Phagen nur in der RTD verwendeten, und PAPAVALASSILOU und OBIGER³³ (76 %), die jedoch mit der 100fachen RTD typisierten. Ein uneingeschränkter Vergleich der Typisierbarkeit ist aber nicht möglich, da die Untersuchungen der verschiedenen Autoren mit uneinheitlichen Phagenpräparationen durchgeführt wurden. Bei den vorliegenden Untersuchungen waren mit dem Davidson-Phagensatz (DPS) 901 (84,0 %) Kulturen typisierbar, gegenüber 784 (73,1 %) mit den Phagen der IS. Da ein geeigneter Phagensatz mit möglichst vielen Kulturen in der RTD reagieren sollte, war es bedeutungsvoll, daß bereits 676 (63,0 %) Kulturen mit dem DPS in der RTD typisierbar waren. Mit dem gleichen Phagensatz in der RTD fand DAVIDSON⁹ in England 86,8 % typisierbare Kulturen. GEDEK¹⁵ berichtete mit einem ähnlichen Phagensatz über eine Typisierbarkeit von 92,7 %. Dabei reagierten bereits 87,9 % der Kulturen mit den Phagen in der RTD. Die Lysotypieergebnisse anderer Autoren lassen sich zum Vergleich nicht heranziehen, da meistens verschiedene Phagensätze in den verschiedenen Konzentrationen verwendet wurden. Daraus ergibt sich auch die dringende Notwendigkeit zur Standardisierung eines Phagensatzes.

In Übereinstimmung mit den Arbeiten von COLES und EISENSTARK⁶, FLEMING und PATON¹², LOKEN und HOYT²⁴ und MANN²⁵ wurde ein Großteil (45,1 %) der 1073 Staphylokokkenkulturen von dem Phagen 42D lysiert. Doch noch häufiger (48,6 %) reagierte der Phage 42E. Auch EDDS und SANDERS¹⁰, FUJIKURA und SHIBATA¹³, GALTON et al.¹⁴ und SIGIMURA⁴⁵ beobachteten bei ihren Untersuchungen häufiger Lyse durch einen Phagen der Gruppe III. Von dem DPS hatten die Phagen 102 (43,3 %), 1363-14 (34,3 %) und 107 (34,0 %) der Lysogruppe IV die größte Reaktionshäufigkeit. Die regional unterschiedliche Reaktionshäufigkeit ergibt der Vergleich dieser Ergebnisse mit denen von DAVIDSON⁹. Bei seinen Untersuchungen lysierten ebenfalls die "bovinen" Phagen der Gruppe IV die meisten Kulturen, allerdings in etwas anderer Häufigkeit und Reihenfolge. Die Phagen AC₁ (9,3 %), S₁ (5,9 %), S₆ (8,8 %) und 883 (2,2 %) reagierten jedoch weitaus häufiger mit den "bovinen" Staphylokokken als bei den vorliegenden Untersuchungen. Auch bei den Untersuchungen von GEDEK¹⁵ lysierten die Phagen 102 und 107 mit 64,2 % bzw. 69,7 % einen großen Teil der 469 Staphylokokkenstämmе.

Bei der Typisierung mit den Phagen der IS ergaben sich bei 276 mit der RTD typisierbaren Staphylokokkenkulturen 68 verschiedene Lysebilder, gegenüber 71 verschiedenen Lysebildern bei 676 Kulturen mit dem DPS. Auf die Zahl der typisierbaren Stämme bezogen, ergab sich somit mit den Phagen der IS eine weit größere Anzahl von Lysebildern. Das bedeutet gleichzeitig eine weitgehendere Differenzierung der Staphylokokken, da mit dem Internationalen Phagensatz durchschnittlich nur 4 Stämme das gleiche Lysebild hatten. Dagegen hatten mit dem DPS durchschnittlich 10 Stämme das gleiche Lysebild. GEDEK¹⁵ ermittelte bei 469 typisierbaren Staphylokokkenstämmen mit einem ähnlichen Phagensatz 113 verschiedene Lysebilder. Somit hatten etwa 4 Stämme das gleiche Lysebild. Die unterschiedliche Differenzierung könnte vielleicht darauf beruhen, daß GEDEK von jeder Herde nur einen Stamm differenzierte, während bei dem vorliegenden Untersuchungsmaterial mehrere Staphylokokken-

kulturen eines Bestandes typisiert wurden. Es könnte sich dabei in vielen Fällen um identische Kulturen gehandelt haben, die dann bei der Typisierung das gleiche Lysebild hatten.

Bei der Typisierung mit den Phagen der IS war auffallend, daß sowohl ein Lysebild aus nur einem Phagen (42D) als auch ein Lysebild aus 11 Phagen (29/52/52A/79/6/7/42E/47/54/81/825) mit 12,3 % von 276 Kulturen gleich häufig vorkamen. Auch bei der Typisierung mit dem DPS reagierten 19,1 % von 676 Kulturen nur mit einem Phagen (102).

Da lange Lysebilder infolge der Variabilität der Phagenreaktionen die Entscheidung über die Identität mehrerer lysotypie-ähnlicher Staphylokokkenkulturen erschweren (DAVIDSON⁸, NAKAGAWA²⁹, PRICE, NAEVE, RIPPON und WILLIAMS³⁸), muß es als ungünstig angesehen werden, daß noch 23,6 % von 276 Kulturen mit 10 und mehr Phagen der IS reagierten. Diese hohe gleichzeitige Phagenempfindlichkeit typisierbarer Staphylokokken vom Rind gegenüber mehreren "humanen" Testphagen beobachtete auch DAVIDSON⁸. Wesentlich günstiger ist die Länge der mit dem DPS ermittelten Lysebilder zu beurteilen, da nur 0,3 % von 676 Kulturen Lysebilder unter Beteiligung von 10 und mehr Phagen hatten. Sowohl mit den Phagen der IS als auch mit dem DPS reagierten jedoch mit 26,6 % bzw. 37,2 % die meisten Kulturen nur mit einem Phagen.

Infolge der zahlreichen Lysereaktionen der Phagen der IS, die vielfache Phagenkombinationen gestatteten, ergab sich eine Vielfalt von Lysebildern, so daß nur 40,2 % der 276 Kulturen in die eigentlichen Lysogruppen des Internationalen Phagensatzes einzuordnen waren. Davon gehörte der größte Teil, in Übereinstimmung mit den Befunden von SLANETZ und BARTLEY⁴⁶, zur Lysogruppe I. Den von anderen Autoren am häufigsten beobachteten Lysogruppen IV (COLES und EISENSTARK⁶, DAVIDSON⁹, FLEMING und PATON¹²) und III (LOKEN und HOYT²⁴, NAKAGAWA²⁹, PAPA VASSILIOU und OBIGER³³) gehörten 12,3 % bzw. 2,2 % der

Stämme an. Mit 6,8 % entfielen mehr Stämme als bisher beschrieben auf die Lysogruppe II. Die ungenügende Eingruppierung der Staphylokokkenkulturen ist für die eigentliche Differenzierung belanglos, hinsichtlich der gewünschten Einteilung der Kulturen in Gruppen ist sie jedoch von Nachteil (NAKAGAWA²⁹). Deshalb ist die Eingruppierung der mit dem DPS typisierbaren Kulturen wesentlich günstiger zu beurteilen, da von 676 Kulturen 79,2 % in die Lysogruppen einzuordnen waren. Allein 65,5 % der Stämme gehörten zur Lysogruppe IV. Auch GEDEK¹⁵ beobachtete bei seinen Untersuchungen einen ähnlich hohen Prozentsatz von Gruppe IV-Stämmen.

Zur Eingruppierung einer Staphylokokkenkultur in die Lysogruppen sollten keine überschneidenden Reaktionen mit Phagen verschiedener Gruppen auftreten (DAVIDSON⁹). Die Häufigkeit, mit der 2 Phagen des DPS gemeinsam im Lysebild einer Kultur erschienen, zeigte, daß einige Phagen der Lysogruppen I, III und M diese Bedingung nicht erfüllten. Lediglich die Phagen der Gruppe IV haben eine ähnliche Wirtsspezifität, d. h. sie lysierten eine Kultur häufig gemeinsam, so daß deren Lysogruppenzugehörigkeit eindeutig feststand. Darauf weist auch der hohe Prozentsatz von Gruppe IV-Stämmen hin. In der Gruppe I waren nur die Phagen 29 und 52A häufig gemeinsam anzutreffen. Der Phage 77Ad reagierte jedoch häufiger gemeinsam mit Phagen der Gruppe III, so daß dessen Zugehörigkeit zur Gruppe I bezweifelt werden muß. Die Phagen der Lysogruppe III, besonders der Phage 77, zeigten viele Kreuzreaktionen mit Phagen anderer Gruppen. Somit war die Eingruppierung der von diesen Phagen lysierten Kulturen nicht immer möglich. Auch die nicht eindeutig klassifizierten Phagen der Gruppe M wurden oft gemeinsam mit Phagen anderer Gruppen in Lysebildern angetroffen. Bei den 5 vom Phagen 78 lysierten Stämmen war keine besondere Verwandtschaft zu Phagen einer anderen Gruppe zu erkennen. Auch beim Phagen S₁ ist es unklar, ob er in die Gruppe I oder III einzuordnen ist. Der Phage S₆ scheint jedoch lytische Verwandtschaft zu den Phagen 29 und 52A der Gruppe I zu haben.

Bei der Typisierung der Staphylokokkenkulturen wurden, besonders mit den Phagen der IS, aber auch mit dem DPS, regionale Unterschiede in der Phagenempfindlichkeit zwischen den Kieler und den Aulendorfer Kulturen festgestellt. Aus dem höheren Prozentsatz typisierbarer Kulturen, den längeren Lysebildern und der weitgehenderen Differenzierung ergab sich allgemein eine größere Phagenempfindlichkeit der Kieler Kulturen. Bei der Zusammenstellung eines Phagensatzes müßte auch die regional unterschiedliche Reaktionshäufigkeit der Phagen 29, 52A, 6, 75, 102 und 107 berücksichtigt werden.

Die Typisierung der Staphylokokkenkulturen mit den Phagen der IS zeigte, in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von COLES und EISENSTARK⁶, DAVIDSON⁸, NAKAGAWA²⁹ und PRICE, NAEVE, RIPPON und WILLIAMS³⁸, daß dieser Phagensatz zur Typisierung von Staphylokokken vom Rind nur teilweise geeignet ist. Zu wenige, besonders mit der RTD typisierbare Kulturen, zu lange Lysebilder und ungenügende Eingruppierung der Staphylokokkenkulturen lieferten unbefriedigende Ergebnisse. Aber auch die mit dem DPS ermittelten Ergebnisse waren nicht in jeder Hinsicht zufriedenstellend. Die von DAVIDSON⁸ aufgestellten Forderungen (siehe Seite 14) wurden nur zum Teil erfüllt. Zwar waren insgesamt genügend Kulturen typisierbar, doch der mit der RTD typisierbare Prozentsatz war für epidemiologische Untersuchungen noch zu gering. Die Phagen AC₁, 78 und 883 lysierten nur eine geringe Anzahl von Kulturen, und darüber hinaus nur solche, die auch mit anderen Phagen reagierten, so daß sich deren Verwendung erübrigen würde. Um so mehr erwies sich die Mitführung der "bovinen" Phagen 102, 107 und 1363-14 als vorteilhaft, weil dadurch der Prozentsatz typisierbarer Kulturen erhöht und Stämme der Lysogruppe IV besser erkannt wurden. Gerade für diese häufig vorkommende Gruppe erscheint jedoch eine weitere Differenzierung der Stämme durch Hinzunahme geeigneter Gruppe IV-Phagen angebracht.

Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse wird für die Typisierung

in Deutschland vorkommender Staphylokokken vom Rind folgender Phagensatz vorgeschlagen: Für die Lysogruppe I würden die Phagen 29, 52A und der Phage 79 an Stelle des Phagen 77Ad von der IS übernommen. Hinzu käme der Phage S_6 . Da nur wenige Staphylokokken der Lysogruppe II angehören, genügte es, den Phagen 3A mitzuführen. Die Phagen der Lysogruppe III neigen besonders zu Kreuzreaktionen. Damit diese Gruppe nicht zu umfangreich wird, könnten der aktivste Phage dieser Gruppe (42E) und die Phagen 6, 54 und 75 verwendet werden. Die Lysogruppe IV wäre beizubehalten. In die Lysogruppe M könnten die Phagen 81, 825 und S_1 eingereiht werden. Somit wäre folgender Phagensatz zu empfehlen:

Gruppe I	29, 52A, 79, S_6
Gruppe II	3A
Gruppe III	6, 42E, 54, 75
Gruppe IV	42D, 102, 107, 1363-14
Gruppe M	81, 825, S_1

6,0 Zusammenfassung

An Hand von 1073 koagulasepositiven Staphylokokkenkulturen aus Milchproben wurde die Brauchbarkeit des Internationalen Phagensatzes und des Davidson-Phagensatzes, der aus 10 Phagen der Internationalen Serie und 7 "bovinen" Phagen besteht, zur Typisierung in Deutschland vorkommender Staphylokokken vom Rind geprüft. Da das Untersuchungsmaterial aus verschiedenen Einzugsgebieten stammte, wurde gleichzeitig auf regionale Unterschiede in der Phagenempfindlichkeit der Staphylokokken geachtet.

Zur Charakterisierung des Davidson-Phagensatzes wurde zunächst das Lysespektrum bestimmt. Mit den Phagen der Internationalen Serie in der RTD und der 100fachen RTD waren insgesamt 784 (73,1 %) Staphylokokkenkulturen typisierbar, während 901 (84,0 %) mit dem Davidson-Phagensatz typisiert werden konnten. Besonders mit der RTD war der Prozentsatz typisierbarer Kulturen mit dem Davidson-Phagensatz höher (63,0 %) als mit dem Internationalen Phagensatz (25,8 %).

Von den 276 mit den Phagen der Internationalen Serie in der RTD typisierbaren Kulturen ließen sich nur 40,2 % in die eigentlichen Lysogruppen einordnen. Zur Lysogruppe I gehörten 18,1 % und zur Lysogruppe IV 12,3 % der Kulturen. Von den 676 mit dem Davidson-Phagensatz in der RTD typisierbaren Kulturen waren 79,2 % in die Lysogruppen einzuordnen. Nicht weniger als 65,5 % der Kulturen entfielen dabei auf die Gruppe IV. Am häufigsten wurden die 1073 Kulturen von den Phagen 42E (48,6 %) der Internationalen Serie und 102 (43,3 %) des Davidson-Satzes lysiert.

In der Länge der Lysebilder wurden bei der Typisierung mit den beiden Phagensätzen erhebliche Unterschiede sichtbar. Während noch 110 (39,6 %) von 276 Kulturen mit 7 und mehr Phagen der Internationalen Serie reagierten, waren es mit den Phagen des Davidson-Satzes nur 18 (2,4 %) von 676 Kulturen. Trotzdem wurden bei beiden Untersuchungen die meisten Kulturen nur von einem Phagen lysiert.

Aufgrund der Häufigkeit, mit der 2 Phagen des Davidson-Satzes eine Staphylokokkenkultur gemeinsam lysierten, wurde festgestellt, daß die Phagen der Lysogruppe IV am häufigsten miteinander in Lysebildern anzutreffen waren. Die Phagen der Lysogruppe III zeigten viele Kreuzreaktionen, so daß die Eingruppierung der von diesen Phagen lysierten Kulturen nicht immer möglich war.

Regionale Unterschiede in der Phagenempfindlichkeit zwischen den Kieler und den Aulendorfer Kulturen wurden mit beiden Phagensätzen beobachtet. Die Kieler Kulturen hatten allgemein eine höhere Empfindlichkeit, was in der besseren Typisierbarkeit, den längeren Lysebildern und der sich daraus ergebenden weitgehenderen Differenzierung zum Ausdruck kam.

Diese Ergebnisse zeigten, daß der Internationale Phagensatz zur Typisierung von Staphylokokken vom Rind nur teilweise geeignet ist, da nur verhältnismäßig wenige Kulturen typisierbar waren, und zu lange Lysebilder die Eingruppierung der Staphylokokken erschwerten. Aber auch die mit dem Davidson-Phagensatz ermittelten Ergebnisse waren nicht in jeder Hinsicht zufriedenstellend. Zwar waren insgesamt genügend Kulturen typisierbar, doch der mit der RTD typisierbare Prozentsatz war noch zu gering. Die Mitführung der "bovinen" Phagen 102, 107 und 1363-14 erwies sich als vorteilhaft. Zur Typisierung in Deutschland vorkommender Staphylokokken vom Rind wurde nach den vorliegenden Ergebnissen ein Phagensatz vorgeschlagen.

7,0 Literaturverzeichnis

1. BLAIR, J.E. und R.E.O. WILLIAMS: Phage typing of staphylococci. Bull.Wld.Hlth.Org. 24, 771 (1961)
2. BRANDIS, H.: Die Anwendung von Phagen in der bakteriologischen Diagnostik mit besonderer Berücksichtigung der Typisierung von Typhus- und Paratyphus B-Bakterien sowie Staphylokokken. Ergebn.Mikrobiol. 30, 96 (1957)
3. BRANDIS, H.: Bakteriophagen und Lysotypie. in: Reploh, H. und H.J. Otte Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 2. Auflage, 1965
4. BRODAUF, H.: Die Staphylokokkenfrage in der Sicht des Eutergesundheitsdienstes. Dtsch.tierärztl.Wschr. 71, 85 (1964)
5. COLES, E.H. und A. EISENSTARK: Staphylococcic Phages. I. Lysogenicity in staphylococcus aureus of animal origin. J.Vet.Res. 20, 832 (1959)
6. COLES, E.H. und A. EISENSTARK: Staphylococcic Phages. II. The use of human typing phages and adapted human typing phages in the typing of staphylococcus aureus animal origin. J.Vet.Res. 20, 835 (1959)
7. COLES, E.H. und A. EISENSTARK: Staphylococcic Phages. III. Typing of staphylococcus aureus cultures isolated from the bovine udder. J.Vet.Res. 20, 838 (1959)
8. DAVIDSON, I.: A set of bacteriophages for typing bovine staphylococci. Res.Vet.Sci. 2, 396 (1961)
9. DAVIDSON, I.: Rundschreiben an Laboratorien, die sich mit der Lysotypie von S. aureus tierischen Ursprungs beschäftigen.

10. EDDS, G.T. und
D.A. SANDERS: Identification and persistence of
phage types of staphylococcus
aureus in dairy cows in florida.
Am.J.Vet.Res., 27, 951 (1966)
11. FISK, R.T.: Studies on staphylococci.
II. Identification of staphylococcus
aureus by means of bacteriophage.
J.Infect.Dis. 71, 161 (1942)
12. FLEMING, L.W. und
J.M. PATON: Studies on bovine staphylococci
mastitis. II. Characterization of
isolates.
Am.J.Vet.Res. 22, 970 (1961)
13. FUJIKURA, T. und
S. SHIBATA: Epidemiological studies on bovine
staphylococci by means of drug
sensitivity test and phage typing.
Nat.Inst.Anim.Hlth. 5, 146 (1965)
14. GALTON, M.M. et al.: A six months survey of staphylococcal
flora in the milk from a large dairy
herd.
Proc.US Livestock san.Assoc. 65, 251
(1961)
15. GEDEK, W.: Ein Bakteriophagensatz zur Typisie-
rung boviner Staphylokokken.
Berl. u. Münch. Tierärztl.Wschr.
79, 292 (1966)
16. GEORGE, C.S.;
K.E. RUSSEL und
J.B. WILSON: Characteristics of staphylococci
from bovine milk.
J.Inf.Dis. 110, 75 (1962)
17. GERSHMAN, M. und
J.F. WITTER: Phage-typing staphylococci of bovine
origin.
J. Dairy Sci. 45, 1577 (1962)
18. GRÜN, L.: Alte und neue Probleme der Staphylo-
kokken.
Ergebn.Mikrobiol.31, 130 (1958)
19. GRÜN, L.: Staphylokokken in Klinik und Praxis.
Wissenschaftl.Verlagsges.m.b.H.,
Stuttgart, 1964
20. GRÜN, L. und
G. PULVERER: Ergebnisse einer Differenzierung von
Staphylokokken des Phagtyps "80".
Z.Hyg.Infekt.-Kr. 146, 385 (1960)

21. JONES, R.H. und
F.W. BENNET: Bacteriophage types and antibiotic sensitivity of staphylococci from bovine milk and human nares. Appl.Microbiol. 13, 725 (1965)
22. KIELWEIN, G.: Beobachtungen in Vorzugsmilchbetrieben mit Staphylokokkeninfektionen. Tierärztl.Umschau 21, 343 (1966)
23. LERCHE, M.: Lehrbuch der Tierärztlichen Milchüberwachung. Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, 1966
24. LOKEN, K.J. und
H.H. HOYT: Studies on bovine staphylococcic mastitis. I. Characterization of staphylococci. Am.J.Vet.Res. 23, 534 (1962)
25. MANN, P.H.: Bacteriophage typing of staphylococci isolated from animals. Canad.J.publ.Hlth. 51, 153 (1960)
26. MARSHALL, R.B.: Staphylococci from dairy cattle. N.Z.Vet.J. 12, 57 (1964)
27. MATZ, K. und
P. SCHULZE: Phagentypisierung ausgewählter Staphylokokkenstämme. Z.Hyg.Infekt.-Kr. 149, 15 (1962)
28. MATZ, K.: Lysotypie mit phagenimprägnierten Papierblättchen (Disks). Z.Hyg.Infekt.-Kr. 150, 103 (1964)
29. NAKAGAWA, M.: Studies on bacteriophage typing of staphylococci isolated from bovine milk. I. Typing by means of 20 phages of the international series. Jap.J.Vet.Res. 8, 191 (1960)
30. NAKAGAWA, M.: Studies on bacteriophage typing of staphylococci isolated from bovine milk. III. Typing by means of a new phage set. Jap.J.Vet.Res. 8, 331 (1960)
31. OEDING, P. und
D. SOMPOLINSKY: On typing of staphylococcus aureus: the relationship between typing according to phage patterns, serology, and antibiograms. J.Inf.Dis. 102, 23 (1958)

32. ORTEL, S.: Lysotypie von *Staphylococcus aureus* zur Klärung epidemiologischer Zusammenhänge bei durch Fischkonserven hervorgerufenen Staphylokokken-Nahrungsmittelvergiftungen. Z.Hyg.Infekt.-Kr. 144, 407 (1958)
33. PAPAVALASSILIOU, J. und G. OBIGER: Über das Vorkommen und das Phagenbild von Koagulase-positiven Staphylokokken in Milch. Zbl.f.Bakt. I Orig. 175, 505 (1959)
34. PARGAONKER, V.N.; E.H. COLES und A. EISENSTARK: Phage typing of *staphylococcus aureus* associated with cases of bovine mastitis. Am.J.Vet.Res. 23, 1205 (1962)
35. PARISI, J.T. und J.N. BALDWIN: The incidence and persistence of certain strains of *staphylococcus aureus* in dairy herds. Am.J.Vet.Res. 24, 551 (1963)
36. PARKER, M.T.: Phage-typing and the epidemiology of *staphylococcus aureus* infection. J.appl.Bact. 25, 389 (1962)
37. PÖHN, H.P.: Zur Differenzierung von Staphylokokken. Z.Hyg.Infekt.-Kr. 116, 92 (1958)
38. PRICE, P.; NAEVE, F.K.; RIPPON, J.E. und R.E.O. WILLIAMS: The use of phagotyping and penicillin sensitivity tests in studies of *staphylococci* from bovine mastitis. J.Dairy Res. 21, 342 (1954)
39. PULVERER, G.: Lysotypie, Serologie und Antibiogramm pyogener Staphylokokken im Kölner Raum. Z.Hyg.Infekt.-Kr. 147, 417 (1961)
40. PULVERER, G.: Lysotypie der Staphylokokken. in: Grün, L.: Staphylokokken in Klinik und Praxis. Wissenschaftl.Verlagsges.m.b.H., Stuttgart, 1964
41. ROSASCHINO, F. und L. BERTONI: Sulla Identificazione Fagica Degli Stafilococchi Isolati Dalla Mammella Bovina. Arch.Vet.Ital. 13, 523 (1962)

42. SEELEMANN, M.: Mastitis-Probleme.
Mh.Tierhk. 14, 233 und 287 (1962)
43. SETO, J.T.; KAESBERG, P. Electron microscopy and serology
und J.B. WILSON: of staphylococcus phages.
J.Bact. 72, 847 (1956)
44. SETO, J.T. und Bacteriophage typing of micrococci
J.B. WILSON: of bovine origin.
Am.J.Vet.Res. 19, 241 (1958)
45. SIGIMURA, T.: Studies of staphylococci in dairy
herds and evaluation of some diagnos-
tic methods for mastitis.
Jap.J.Vet.Res. 12, 34 (1964)
46. SLANETZ, L.W. und Bacteriophage and serological
C.H. BARTLEY: typing of staphylococci from
bovine mastitis.
J.Inf.Dis. 110, 238 (1962)
47. SMITH, H.W.: The typing of staphylococci of
animal origin by the bacteriophage
method.
J.comp.Path. 58, 179 (1948)
48. SOLOMON, J.J.; Quantitative coagulase activity
SAN CLEMENTE, C.L. und and phage patterns of strains of
A.R. DRURY: staphylococcus aureus isolated
from cows in michigan.
Am.J.Vet.Res. 22, 975 (1961)
49. UNTERMANN, F.: Ein Beitrag zur Frage der Therapie
der chronischen Staphylokokken-
Mastitiden.
Berl.u.Münch.Tierärztl.Wschr.
77, 353 (1964)
50. WILLIAMS, R.E.O. und Bacteriophage typing of staphylo-
J.E. RIPPON: coccus aureus.
J.Hyg. 50, 320 (1952)
51. WILSON, G.S. und Typing of staphylococci by the
J.D. ATKINSON: bacteriophage method.
zit. nach 2.

A n h a n g



Abb. 1: Titration des Phagen 102.
Die RTD ist die Verdünnungs-
stufe 10^{-4}

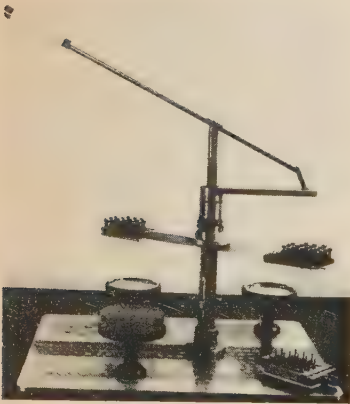


Abb. 2: Typisiergerät

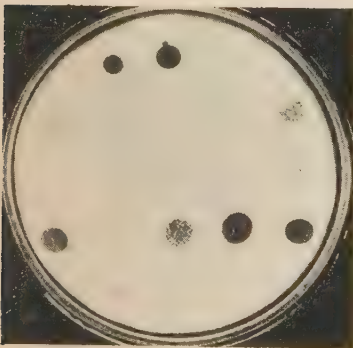


Abb. 3: Staphylokokkenkultur mit
dem Lysebild 29/52A/75/78/
102/107/1363-14

Nach Beendigung der Arbeit danke ich Herrn Professor Dr. H. Blobel für die Themastellung und die jederzeit gewährte Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit sehr herzlich.

Weiterhin gilt mein Dank Herrn Professor Dr. Brandis, Göttingen, und Herrn Dr. Davidson, Weybridge, England, für die Überlassung der Testphagen.

Ich danke auch Herrn Professor Dr. Tolle und Herrn Dr. Heeschen, Institut für Milchhygiene, Kiel, sowie Herrn Regierungsveterinär Dr. Kielwein, Tierärztliches Untersuchungsamt Aulendorf, für die Zusendung des Untersuchungsmaterials. Auch den anderen veterinärmedizinischen Instituten sei für die Einsendung von Staphylokokkenkulturen gedankt.

Lebenslauf

Am 2. September 1939 wurde ich, Werner Bonin, als Sohn des damaligen Baupraktikanten Erich Bonin und seiner Ehefrau Auguste, geb. Herget, in Bad König im Odenwald geboren. Nach dem Besuch der Volksschule trat ich 1950 in das Realgymnasium in Michelstadt ein. Infolge der Versetzung meines Vaters kam ich 1951 nach Friedberg, Hessen. Dort besuchte ich bis zur Reifeprüfung im Jahre 1959 die Augustinerschule.

Im Sommersemester 1959 begann ich das Studium der Veterinärmedizin an der Justus Liebig-Universität in Gießen, wo ich im Februar 1964 die Tierärztliche Prüfung bestand. Nach Beendigung meiner Veterinär-Praktikantenzeit bei Herrn Dr. Langlotz, Usingen, erhielt ich mit Geltung vom September 1964 die Approbation als Tierarzt. Anschließend war ich als Assistent in der tierärztlichen Praxis tätig. Seit dem 15. Oktober 1965 bin ich am Institut für Bakteriologie und Immunologie der Justus Liebig-Universität als Verwalter einer Assistentenstelle beschäftigt.

FOTO-DRUCK

H. Gahmig · Graph. Anstalt · 63 Gießen · Klinikstraße 21 · Telefon 78546

FOTO-DRUCK

H. Gahmig · Graph. Anstalt · 63 Gießen · Klinikstraße 21 · Telefon 78546